

ANNEE 1977 N° 8

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DU CYCLE ŒSTRAL  
DE LA FEMELLE ZEBU (BOS INDICUS)  
PAR LES TECHNIQUES CYTOLOGIQUES**

**T H E S E**

Présentée et soutenue publiquement le 11 Juillet 1977  
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar  
pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE  
(DIPLOME D'ETAT)

par

**Issaka Yamba PESSINABA**

né en 1944 à DAPANGO (Togo)



Président du Jury : Mr Paul CORREA  
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES DE

DAKAR

ANNEE UNIVERSITAIRE 1976-1977

DIRECTEUR : Ahmadou Lamine NDIAYE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

1° - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

ANATOMIE - HISTOLOGIE - EMBRYOLOGIE

Pierre	CUQ	Professeur
Charles Kondi	AGBA	Assistant
Patrick	CHAMBION	V.S.N.
Théodore	ALOGNINOUBA	Moniteur
Yamba I.	PESSINABA	Moniteur

PHYSIOLOGIE + PHARMACODYNAMIE - THERAPEUTIQUE

Alassane	SERE	Maître-Assistant
Emile	TOIGBE	Moniteur

PARASITOLOGIE - MALADIES PARASITAIRES - ZOOLOGIE

Pierre Maurice	TRONCY	Assistant
Amadou	GOUNOU	Moniteur

.../...

HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES D'ORIGINE ANIMALE

Jacques	ROZIER	Professeur
Ignace Labli	KOMBATE	Assistant
Jean-François	GIOVANNETTI	V.S.N.
Issoufou	DARE	Moniteur

REPRODUCTION ET CHIRURGIE

Jean	FERNEY	Professeur
Gérard	AFFRE	V.S.N.
Dossa Honoré	ASSOGBA	Moniteur

MICROBIOLOGIE - PATHOLOGIE GENERALE  
MALADIES CONTAGIEUSES ET LEGISLATION SANITAIRE

Jean	CHANTAL	Professeur
Pierre	BORNAREL	Recherches
Justin Ayayi	AKAKPO	Assistant
Salissou	MAYANA	Moniteur

ZOOTECHE - ALIMENTATION

Ahmadou Lamine	NDIAYE	Professeur
Balaam	FACHO	Assistant
Moussa	BAKHAYOKHO	Moniteur

11° - PERSONNEL VACATAIRE

PHARMACIE - TOXICOLOGIE

Oumar	SYLLA	Pharmacie	Professeur - Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
Georges	GRAS	Pharmacie	Professeur - Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

PHYSIQUE - CHIMIE

Raymond	PAULIN	Biophysique	Maître de Conférence - Fac. de Médecine et de Pharmacie
Jacques	JOSSELIN	Biochimie	Professeur - Fac. de Médecine et de Pharmacie

PHARMACODYNAMIE - THERAPEUTIQUE

Humber	GIONO-BARBER		Professeur - Fac. de Médecine et de pharmacie
--------	--------------	--	---

AGRONOMIE

Simon	BARRETO		Maître de Recherches - ORSTOM
-------	---------	--	-------------------------------

BIOCLIMATOLOGIE

Cheikh	BA		Maître-Assistant-Faculté de Lettres
--------	----	--	-------------------------------------

.../...

CHIRURGIE

Jean

LENIHOUANEN

Maître de Conférences  
E.N.V. - Lyon

MEDECINE

LAPRAS

Professeur - E.N.V. - Lyon

Par délibération, la Faculté et l'Ecole ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation".

A Ma Mère

A Mon Père

Faible témoignage de mon affection et de ma profonde reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis

A la Mémoire de mon oncle ARZOUMA

Trop tôt arraché à notre affection  
Ta disparition nous avait ôté tout espoir

A Mon Epouse Régine MANA

En témoignage de notre profond amour et en souvenir du soutien moral que tu m'as apporté tout au long de ce travail.

A Mes Enfants

Puisse ce travail vous inciter à faire mieux.

A Mes Frères et Soeurs

En témoignage de la profonde affection qui nous unit

A Mes Beaux Parents

Faible témoignage de ma profonde reconnaissance

Au Docteur et Madame AGBA

Des mots seraient insuffisants pour vous exprimer  
toute ma reconnaissance

A M. CLEMENT

A NENE

A AMINATA BA

Vous avez été pour nous un père, une mère et une  
soeur au Sénégal.

Si ce travail peut être pour vous une récompense

Aux Docteurs

M.F. KOLANI

A. NADIO

J. ANAKPO

A MAYANA

Sincère amitié

.../...

A Tous mes amis, trop nombreux pour être cités ici,

Qu'ils veuillent se retrouver dans cette formule vague certes, mais seule capable de les embrasser tous

A Tous les Etudiants Togolais à DAKAR

A Tous mes promotionnaires et camarades d'Université,

En souvenir des longues années passées ensemble

A Mlle S. BADJI

Nous avons toujours rencontré auprès de vous disponibilité et compréhension

Sincère remerciement

A M.M.

J. NDIAYE

M. DIOP

Vous avez été indispensables à la réalisation de ce travail

Toute notre gratitude

A M.P. NDIAYE

Nous nous avons aidés dans l'accomplissement de ce travail. Sincère remerciement.



A Tout le personnel du service d'Anatomie

A Tout le personnel du service de Pathologie Infectieuse

A Tout le personnel des Abattoirs de DAKAR

En témoignage de leur participation active aux  
prélèvements

Au F.A.C.

En témoignage de la bourse qu'il a accordée au cours  
de nos études vétérinaires

Au TOGO, Mon Pays

A Notre Pays hôte, Le SENEGAL, pour son hospitalité

.../...

A Notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur P. CORREA

Professeur de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de DAKAR,

Vous nous avez fait le grand honneur de bien vouloir  
accepter de présider notre jury de thèse

Avec notre profonde reconnaissance et  
notre hommage respectueux

A Monsieur le Professeur P. CUQ, de l'E.I.S.M.V.

Vous nous avez inspiré le sujet de ce travail que  
vous avez suivi avec grand intérêt. Par votre souci  
constant du travail bien fait, votre disponibilité  
constante et votre expérience, vous nous avez conduit  
lentement mais sûrement vers son élaboration. Votre  
rôle de guide a été remarquable

Recevez ici les hommages respectueux d'un  
élève reconnaissant

A Monsieur le Professeur J. FERNEY, de l'E.I.S.M.V.

Toujours disponible et avec sourire, vous n'avez  
jamais ménagé aucun effort pour nous apporter vos  
conseils et votre collaboration à la réalisation de  
ce travail a été remarquable

Plus qu'un honneur, c'est une grande joie  
pour nous, que vous soyez à nos côtés en  
ce jour

A Monsieur le Professeur Ph. ANTHONIOZ, de la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Vous nous avez toujours bien accueilli et vous avez, très aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Toute notre reconnaissance

A Tous nos Maîtres de l'E.I.S.M.V.

Nos hommages reconnaissants.



Le diagnostic des phases du cycle par l'étude des frottis vaginaux est évidemment inapplicable dans les conditions courantes de l'élevage, mais dans les centres de recherches zootechniques. Il pourrait contribuer efficacement à l'amélioration du taux de fécondité et indirectement à l'amélioration génétique par sélection ou croisements.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre des recherches que le laboratoire d'Anatomie, Histologie et Embryologie de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de DAKAR poursuit depuis 1970. Son but est d'approfondir l'étude du cycle oestral de la femelle zébu par les techniques cytologiques.

La première partie sera consacrée à des généralités relatives au cycle oestral des mammifères et aux méthodes utilisées pour diagnostiquer ses différentes phases

La deuxième partie traitera des méthodes de diagnostic employées chez "Bos taurus" et insistera sur les frottis vaginaux.

La troisième et dernière partie, après un bref rappel des particularités anatomiques et fonctionnelles des organes génitaux de la femelle zébu, fera le bilan de nos recherches personnelles en suivant le plan classique de ce type d'exposé : Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion.

PREMIERE PARTIE  
-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

LE CYCLE OESTRAL ET LES METHODES  
DE DIAGNOSTIC DE SES PHASES

La période d'activité sexuelle est caractérisée chez les femelles des mammifères par des modifications cycliques des organes génitaux qui peuvent être interrompues ou perturbées par la gestation ou des phases de repos physiologiques ou pathologiques.

Par ses fonctions gamétogénétique et hormonale, l'ovaire provoque des modifications structurales et fonctionnelles qui débordent les limites de l'appareil génital et peuvent retentir sur la plupart des grandes fonctions de l'organisme.

La complexité du mécanisme présidant aux différentes phases du cycle oestral et les diversités des manifestations morphologiques ou fonctionnelles de ses mêmes phases rendent difficile la détermination précise des différentes phases qui le caractérisent et expliquent le nombre important des recherches qui lui ont été consacrées.

Dans cette première partie, nous rappellerons brièvement les principaux phénomènes qui caractérisent le cycle oestral avant d'exposer les principes généraux des méthodes le plus souvent utilisées pour en diagnostiquer les différentes phases ou les troubles.

## CHAPITRE PREMIER

### LE CYCLE OESTRAL

Les variations morphologiques et structurales que présentent les portions gestative et copulatrice du tractus génital sont sous la dépendance de l'équilibre hormonal régi par l'ovaire. Elles se succèdent périodiquement et la série des modifications qui se produisent pendant une période caractérise le "cycle oestral".

Ces phénomènes se produisent en 4 phases dont nous rappellerons les caractéristiques avant d'en résumer les modalités chez les mammifères.

#### I - LES PHASES DU CYCLE OESTRAL

##### I - A°- Première phase : Maturation folliculaire

Au cours de la première phase l'ovaire effectue ses deux fonctions gamétogénétique et hormonale. Un ou plusieurs follicules cavitaires petits ou moyens, débutent le processus de maturation. Ils se transforment en "follicules en croissance" puis en follicule mûr.

Cette phase est provoquée par l'hormone gonadotrope F.S.H. follicule stimulating hormone ou hormone de stimulation folliculaire d'origine adénohypophysaire.

Au cours de cette phase, les cellules ciliées de la muqueuse tubaire se multiplient et les cellules non ciliées augmentent de taille.

Le myomètre s'hypertrophie et se vascularise. Les glandes indifférenciées de l'endomètre prolifèrent et se cir-



convolutionnent. Le col se congestionne peu à peu et devient turgescent. Son épithélium s'enrichit en cellules à mucus. L'épithélium de la muqueuse vaginale mince à la phase précédente prolifère et s'épaissit. C'est la phase de prolifération.

#### 1 - B° - La deuxième phase : ovulation

La deuxième phase est caractérisée par les modifications du comportement de la femelle qui recherche le mâle et par la déhiscence du follicule mûr dont la paroi accolée à l'épithélium ovarien se rompt en même temps que ce dernier pour libérer l'ovule. Ces phénomènes sont sous la dépendance de 2 groupes d'hormones : les oestrogènes produits par l'ovaire et la L.H. (Luteinizing hormone ou hormone de lutéinisation) produite par l'adénohypophyse.

Le mécanisme de l'ovulation est encore mal connu. Mais il est généralement admis que l'ovulation est sous le contrôle de l'hormone gonadotrope L.H. Cependant cette hormone n'intervient dans l'ovulation que lorsque l'ovaire est au préalable sensibilisé par la gonadostimuline F.S.H.

Sous l'action de la congestion intra-ovarienne (vaisseaux ovariens) et de la pression intra-folliculaire due à l'accumulation de la liqueur folliculaire, la paroi du follicule se rompt au niveau du stigma pour libérer l'ovule.

La ponte ovulaire se produit de façon différente selon les espèces.

L'ovulation spontanée est la modalité la plus courante chez les femelles domestiques (Jument, vache, brebis, chèvre, truie...) et chez la femme.

Elle se produit à chaque cycle.

L'ovulation provoquée ne peut s'effectuer par contre que si le coït a lieu ou si la femelle voit un mâle ou un sujet de même espèce.

Elle caractérise la ponte ovulaire de la lapine, de la chatte, de la furette...

Dans les espèces à ovulation provoquée, si celle-ci n'a pas lieu, le cycle est interrompu. Il se limite à la phase oestrogénique de l'activité ovarienne et est dit monophasique par opposition aux cycles normaux ou diphasiques pour lesquels la phase oestrogénique est suivie d'une phase progestative.

Du point de vue hormonale, la deuxième phase du cycle est caractérisée par la sécrétion de l'hormone gonadotrope hypophysaire L.H. (dont nous avons vu le rôle dans le mécanisme de l'ovulation plus haut) et l'activité oestrogénique de l'ovaire.

Au cours de cette deuxième phase, l'oviducte sécrète des substances muco-protéiniques et muco-polysaccharidiques.

L'utérus est turgescent et contractile. Sa muqueuse se congestionne.

Le col se ramollit et s'affaisse sur le plancher du vagin. Il est ouvert et de son orifice caudal s'écoule dans le vagin une sécrétion transparente et visqueuse : la glaire cervicale.

Le vagin contient un mucus abondant qu'il laisse souvent écouler par l'orifice vulvaire. L'épithélium de sa muqueuse se kératinise en surface et commence à desquamer. C'est la phase de kératinisation.

Le comportement des femelles présente aussi des différences caractéristiques et variables avec les espèces pendant la phase d'ovulation.

Elles sont habituellement plus nerveuses, plus irritables, attirent les mâles et ne les acceptent que pendant cette phase dite des "chaleurs".

I - C° - La troisième phase: développement et activité du corps jaune

La troisième phase correspond à la formation et au développement du corps jaune par métaplasie du follicule libéré de son contenu.

Elle est caractérisée par la sécrétion de L.H. par l'adénohypophyse, de progestérone et d'oestrone par l'ovaire.

Pendant cette phase, l'oviducte revient au stade de repos. Mais l'utérus est à sa phase d'activité maximum. Le myomètre et l'endomètre continuent de s'hypertrophier, la paroi augmente de volume et redevient dur à la palpation.

La vascularisation et la glandulisation de l'endomètre sont à leur apogée. Elles traduisent la préparation de la muqueuse à la nidation de l'oeuf. Le col redevient petit et rigide.

Le vagin se décongestionne, son épithélium se desquame abondamment. C'est la phase de desquamation.

Au cours de cette phase, la progestérone provoque sur la température centrale des femelles un accroissement de quelques dixièmes de degré. Chez la femme, ce décalage thermique atteint 0,3 à 0,5°C et se produit après l'ovulation. Ensuite la température se maintient à ce niveau plus élevé (plateau thermique) pendant plusieurs jours (12-14 jours) ; il représente la variation la plus significative de la courbe thermique au cours du cycle chez la femme.

Par ailleurs, la progestérone stimule le développement du parenchyme sécréteur de la mamelle préalablement sensibilisé aux oestrogènes et le prépare à la sécrétion lactée pour la fin de la gestation.

#### I - D° - La quatrième phase : involution du corps jaune

La quatrième phase correspond à la régression du corps jaune. Elle est caractérisée par la diminution voire l'arrêt de la production de progestérone dont l'action inhibitrice sur l'antéhyphysaire devient faible. Par voie de conséquence, la sécrétion hypophysaire de L.H. est inhibée et celle de F.S.H. stimulée. La production de F.S.H. induit la maturation folliculaire d'un nouveau cycle.

Au cours de cette quatrième phase, l'utérus subit une involution progressive chez la plupart des mammifères et rapide chez la femme. Il en est de même pour le col.

L'épithélium vaginal est mince et la desquamation s'arrête. Cette phase correspond au retour à la morphologie et à la structure de repos du tractus génital.

### II - LE CYCLE OESTRAL DES MAMMIFERES DOMESTIQUES

Les quatre phases dont nous venons de rappeler brièvement les caractéristiques essentielles ont reçu des noms variables avec les auteurs. Nous les désignerons ici selon la terminologie adoptée par HEAPE (1898) et classiquement employée en médecine vétérinaire.

La première phase correspond au pro-oestrus et la deuxième à l'oestrus. Ces deux phases sont réunies sous le nom de PHASE OESTROGENIQUE ou FOLLICULAIRE, ou FOLLICULINAIRE

La troisième phase correspond au post-oestrus et la quatrième au di-oestrus. Ces deux phases constituent la PHASE PROGESTATIVE ou LUTEINIQUE.

Le M et - oestrus est selon HEAPE la phase qui suit l'oestrus lorsque l'ovulation n'a pas eu lieu chez les femelles à ovulation provoquée. Certains auteurs comme PELLEQUER (1971) LICHTWITZ et FITOUSSI (1947), JAWORSKI (1950), CHIARASINI et MANGUELLE-DECOUM (1974), utilisent le terme à la place du post-oestrus. Pour éviter toute confusion nous n'utiliserons ici que la terminologie de HEAPE.

L'anoestrus correspond à une phase de repos sexuel qui interrompt le déroulement régulier des cycles. Il peut correspondre à un dysfonctionnement génital, mais peut être aussi physiologique et caractériser la vie génitale des femelles dites à cycles discontinus.

Les cycles de type discontinu ou intermittent sont caractérisés par des périodes d'activité sexuelle, séparées par des anoestrus plus ou moins prolongés. Ainsi certains animaux sauvages des pays tempérés ne présentent qu'un cycle d'activité sexuelle chaque année, au printemps. Ils sont dits à cycle discontinu de type mono-oestrien.

Chez la chienne, si l'on considère le repos génital comme un di-oestrus (de 3 à 4 mois), il y a 2 cycles par an de 6 mois chacun. Si l'on le considère comme un anoestrus, il y a 2 "breeding seasons" (époques sexuelles) séparées et 2 cycles par an de 3 à 2 mois chacun. La chienne a alors un cycle saison de type di-oestrien.

Chez d'autres femelles comme la jument, l'ânesse, la chamelle, la brebis, la chèvre, la chatte, il existe deux époques d'activité sexuelle par année, mais chacune comporte plusieurs cycles. Ces animaux sont à cycle discontinu ou saisonnier de type polyoestrus.

Tableau I :

Les caractéristiques de l'activité ovarienne chez quelques espèces domestiques et de laboratoire

Espèce	Type d'activité sexuelle	Cycle		Pro-oestrus	D U R É E			
		moyenne	extrême		Oestrus	Ovulation	Post-oestrus	Di-oestrus
Jument	saisonnier (printemps)	21 j	16-30 j	3 j	3 - 7 j	24-28h avant fin oestrus	7 j	2-3 j 7 (extrême)
Vache	continu	21 j	16-30 j	3 j	18-36 j	12-16 h après fin oestrus	8-10 j	8-10 j
Chamelle	continu	21 j	10-20 j	3 j	2-3 j	-	-	-
Brebis	saisonnier (printemps)	17 j	14-20 j	3 j	30-36 h	16-36 h après début oestrus	2 j	10 j
Chèvre	saisonnier (automne)	21 j	15-24 j	3 j	24-48 h	30-36 h après début oestrus	-	-
Truie	continu	21 j	18-24 j	3 j	2-3 j	30-48 h après début oestrus	7 j	8 - 10 j
Chienne	continu ou saisonnier (printemps ou automne)	6 mois	-	12 j	10 j	Fin de l'écoulement sanguin	21 j 2 mois parfois	3-4 mois (anoestrus)
Chatte	Européen saisonnier siamois continu	6 j variable	6-8 j	3-4 j	2-3 j	après coït	-	-
Lapine	continu	10 j	-	5 -6 j	3-4 j	10-12 h après coït	-	-
Cobaye	continu	15 j	-	-	6-12 j	fin rut	-	-
Ratte	continu	-	4-5 j	-	-	-	-	-

Chez les femelles à cycles continus, les cycles se succèdent sans interruption pendant toute l'année. Cette continuité de l'activité génitale n'exclut pas des variations saisonnières. Ainsi chez les bovins, l'activité sexuelle est plus marquée au printemps dans les pays tempérés et à la saison des pluies en zone tropicale ; la truie a une activité sexuelle maximale au printemps et en automne.

Pour chaque espèce la vie génitale présente donc des caractéristiques que nous allons résumer dans le paragraphe suivant.

### III - CARACTERISTIQUES DES CYCLES OESTRAUX CHEZ QUELQUES ESPECES DOMESTIQUES ET LA FEMME.

Le tableau n° de la page résume les caractéristiques des cycles oestriques chez quelques espèces domestiques et du laboratoire.

Le tableau est destiné à caractériser l'activité sexuelle de quelques espèces domestiques et de laboratoire. Les données relatives aux durées des cycles et de leurs différentes phases ne figurent qu'à titre indicatif.

Les cycles oestriques de la jument sont intermittents polyoestriens et saisonniers avec deux saisons de "monte".: une principale au printemps et accessoirement une autre en automne.

Il en est de même pour la brebis.

Le type d'activité sexuelle de la chienne est discutable. Il est continu ou saisonnier selon que le repos sexuel est considéré comme un di-oestrus ou comme un anoestrus.

Les espèces comme la vache et la truie ont des cycles de type continu.

.../...

Les espèces à ovulation provoquée comme la lapine, le cobaye, la ratte... ont des cycles continus et courts. Ils s'interrompent et se limitent à la phase oestrogénique si l'ovulation n'a pas eu lieu.

Le cycle oestral de la femme a une durée moyenne de 28 jours et l'ovulation a lieu le 14<sup>e</sup> jour après les règles.

Il diffère, ainsi que celui des primates, des cycles des animaux domestiques par quelques caractères essentiels. La menstruation (règles) ou hémorragie cataméniale correspond à l'écoulement de sang clair et incoagulable. Elle apparaît à la fin du post-oestrus et traduit l'avortement de la préparation gravidique de l'endomètre.



## CHAPITRE II - METHODES DE DIAGNOSTIC DES PHASES DU CYCLE OESTRAL

L'identification des différentes phases du cycle oestral repose sur la mise en évidence des modifications hormonales, morphologiques, structurales, métaboliques et de comportement que nous venons de rappeler brièvement.

Elle va de la simple observation du comportement de l'animal, aux techniques les plus complexes de déterminations des niveaux hormonaux.

Nous mentionnerons ici les plus utilisées en élevage et en clinique vétérinaire: l'observation des modifications du comportement de la femelle et de l'état des parties accessibles de son appareil génital, utilisation de mâles entiers incapables d'effectuer la saillie, surveillance de la courbe thermique, mesure du pH et de la viscosité du mucus vaginal, dosages d'hormones, cytologie utérine ou vaginale et urocytogramme.

### I - MODIFICATIONS DU COMPORTEMENT

Au moment de l'oestrus le comportement de la femelle subit des modifications variables selon les espèces et les sujets, qui constituent une partie de la période dite des "chaleurs". Dans la plupart des espèces, les femelles domestiques sont alors inquiètes, nerveuses, agitées, "en état de vigilance", leur appétit diminue. Mais il existe de nombreuses particularités spécifiques.

Chez la jument, la vulve et le siège de contractions spasmodiques spontanées ou provoquées par attouchement. Elles font apparaître un clitoris congestionné et turgescence au niveau de la commissure ventrale de la vulve.

Chez les bovins, la femelle en chaleurs a tendance à "monter" les autres vaches du troupeau et à se laisser monter par elles.

.../...

La palpation de la région du dos ou du rein provoque des contractions de la vulve qui laisse souvent écouler de longs filets de mucus clair et fluide. Sur les femelles en lactation la production laitière diminue.

Selon la saison, le climat, l'espèce, la race et les sujets, les manifestations extérieures de l'oestrus des bovins sont plus ou moins visibles et peuvent même passer inaperçues.

Chez la brebis, les manifestations des "chaleurs" sont discrètes et peuvent facilement passer inaperçues. D'autres techniques comme celle du mâle dépisteur sont alors utilisées

Chez la truie en chaleurs la vulve est le plus souvent congestionnée mais les signes les plus caractéristiques sont des réflexes de comportement, d'autant plus accusés que la femelle est plus proche de la période d'acceptation du mâle. Alors les oreilles sont dressées et dirigées vers l'avant (signe de BURGER), et l'animal est immobile lors de chevauchement par le verrat ou de pression manuelle de la région lombaire. (Signe de du MESNIL DU BUISSON).

Chez la chienne les chaleurs se caractérisent par une agitation très grande de l'animal. Lorsqu'elle le peut, elle quitte le domicile de ses maîtres et part à la recherche d'un mâle. Elle présente un écoulement vulvaire sanguinolent. Un attouchement périnéal provoque une extension de la région lombaire et une déviation de la queue du côté opposé à la pression qui met ainsi la chienne dans les positions les plus favorables au coït (signe de AMANTEA)

Chez la chatte en chaleurs on assiste à une véritable "parade sexuelle". Elle piétine, et comme la chienne, présente le signe de déviation de la queue, se frotte la vulve. Elle refuse d'abord le mâle. Puis elle l'accepte et pendant la dernière partie des chaleurs elle le refuse à nouveau mais l'attire toujours.

La chamelle en chaleurs n'a pas d'appétit et fait souvent de la diarrhée. Elle est difficile à bâter et à monter, irritable, querelleuse et indocile.

## II - MODIFICATIONS DE L'APPAREIL GENITAL

Trois procédés peuvent être utilisés pour examiner l'appareil génital, les examens externes, l'observation au spéculum et l'exploration rectale.

### A) Examen externe

Pendant les chaleurs, une sécrétion plus ou moins abondante, translucide et filante, le mucus vaginal, s'écoule souvent de la vulve dont la muqueuse est congestionnée.

### B) Observation par spéculum

L'examen vaginal à l'aide d'un spéculum montre pendant la période d'ovulation que la muqueuse vaginale est fortement congestionnée, que le col utérin ouvert et affaissé est perméable au cathéter et qu'il laisse échapper du mucus plus ou moins abondant.

### C) Exploration rectale

A l'exploration rectale on remarque qu'à l'oestrus l'utérus devient gros et rigide, que l'ovaire est turgescant et que le col a une consistance plus souple qu'aux autres phases du cycle.

## III - DETECTION DES CHALEURS PAR MALE BOUTE-EN-TRAIN

Les mâles boute-en-train sont des mâles entiers mis dans l'impossibilité de saillir à la suite d'une déviation du pénis ou de la pose d'un tablier. Ils peuvent aussi être rendus

.../...

inféconds par interruption de la continuité des voies génitales à la suite d'une vasectomie ou d'une épидидymectomie.

#### IV - MODIFICATIONS DES GRANDES FONCTIONS DE L'ORGANISME

L'oestrus chez les femelles des mammifères domestiques s'accompagne de modifications des grandes fonctions de l'organisme. L'examen de la courbe thermique et les modifications du métabolisme ont été utilisés pour diagnostiquer les phases du cycle.

##### A) La courbe thermique

L'identification de l'oestrus par surveillance de la courbe thermique est encore pratiquée chez la femme. Selon GELLER ( ) la température corporelle se maintient un peu en dessous de 37°C (autour de 36,°5c) durant la phase ostrogénique du cycle et dépasse cette limite de quelques dixièmes de degré (0,3 à 0,5c) au début de la phase lutéinique.

Plusieurs tentatives ont été effectuées pour appliquer cette méthode aux animaux domestiques. Une courbe thermique diphasique semblable à celle de la femme a ainsi été mise en évidence. Mais dans nombre d'espèces les écarts thermiques sont faibles et des interférences physiologiques ou pathologiques gênent l'interprétation.

##### B) Modification du métabolisme des lipides

Les actions hormonales qui provoquent le cycle oestral interviennent sur les métabolismes et en particulier celui des lipides.

Comme en témoigne la revue générale de BAKER (1957) la présence d'inclusions lipidiques de taille, de répartition et de nature variables selon les tissus, est connue depuis longtemps.

.../...

V - EXAMEN DU MUCUS

Le mucus de la cavité vaginale subit des modifications importantes au cours du cycle oestral. A l'observation simple, il est abondant, fluide, filant, peu adhérent pendant la phase oestrogénique. Il devient peu abondant, blanchâtre, épais et collant pendant la phase lutéinique.

Au cours de la gestation, il est très peu abondant très épais avec une consistance de colle.

Les variations de pH et de viscosité qu'il subit ont été utilisées pour reconnaître les phases du cycle oestral des mammifères domestiques.

Les modifications de l'élasticité du mucus sont évaluées à l'aide d'un tube capillaire ou "oestroscope", appareil mis au point par SCOTT-BLAIR (1955) et FOLLEY (1961).

Les variations de viscosité sont utilisées pour détecter le moment de l'ovulation chez la femme. Il s'agit du test de SPINNBARKEIT qui consiste à mesurer la longueur du filament que forme le mucus cervical lorsqu'on l'étire entre deux lamelles qui se séparent progressivement. Ce test de SPINNBARKEIT a été appliqué chez certaines femelles domestiques.

## VI - DIAGNOSTIC HORMONAL

Les phases du cycle peuvent enfin être identifiées par évaluation de l'état hormonal de la femelle. Ce diagnostic hormonal peut être effectué par deux séries de méthodes : directes et indirectes.

### A) Méthodes directes

Les dosages des hormones responsables des modifications cycliques représentent la méthode de choix, mais elles sont souvent difficiles à mettre en oeuvre en pratique vétérinaire courante pour des raisons de proximité du laboratoire, de prix de revient ou de particularités spécifiques du fonctionnement hormonal.

Le diagnostic peut être réalisé par dosage des hormones ovariennes ou des gonadostimulines hypophysaires.

#### A - 1) Dosage des hormones ovariennes

Le dosage des hormones ovidiennes peut intéresser les oestrogènes ou la progesterone .../...

A - 1 - a - Dosage des oestrogènes

Le dosage des oestrogènes fait appel à des méthodes physico-chimiques et à des méthodes biologiques.

Les méthodes physico-chimiques sont de deux types :

La méthode colorimétrique est basée sur la réaction de LIBERMANN et SALKOWSKY et sur celle de KÖBER.

Les stéroïdes donnent une fluorescence verte en milieu sulfurique à chaud (réaction de LIBERMANN et SALKOWSKY). Sous l'action des fonctions phénols et de réfugération, la fluorescence verte disparaît et les stéroïdes prennent une coloration rose nette. (Réaction de KÖBER)

Les méthodes biologiques reposent sur le test d'ALLEN-DOISY qui provoque la kératinisation vaginale chez les rongeurs de laboratoire et sur celui d'ASTWOOD qui provoque l'augmentation du poids de l'utérus des mêmes espèces.

Le test d'ALLEN-DOISY, consiste à injecter du plasma ou de l'urine à la souris femelle ou à la ratte castrée et à observer au bout de 45 à 56 h les cellules vaginales sur frottis. L'unité d'ALLEN-DOISY est la plus petite quantité d'oestrogène qui, injectée par voie sous-cutanée, provoque la kératinisation des cellules vaginales de la souris ou de la ratte castrée.

Le test d'ASTWOOD, ou test des 6 heures, est une méthode rapide qui consiste à injecter le plasma ou l'urine par voie sous-cutanée à des rattes impubères âgées de 30 à 33 jours.

L'unité ASTWOOD est la plus petite quantité d'oestrogène qui provoque une augmentation du poids de l'utérus de 33 pour cent au bout de 6 heures sur les mêmes lots d'expérience.

A - 1 - b - Dosage de la Progestérone

Le dosage de la progestérone fait appel au test de CLAUBERG. Il **repose** sur le même principe que les dosages précédents.

L'unité biologique CLAUBERG est la plus petite quantité de progestérone qui, administrée à une lapine impubère non castrée, préparée au préalable à la folliculine, entraîne le phénomène de "dentellisation" utérine, c'est à dire le développement des glandes. Une unité internationale est égale à un milligramme de progestérone standard.

A - 2 - Dosages des gonadostimulines hypophysaires

Les gonadostimulines, hormones de nature protéique, ne sont pas détectables par réaction chimique. Il faut avoir recours, pour les doser, à des méthodes biologiques, immunologiques ou radio-immunologiques.

A - 2 - a - Dosages biologiques

Les dosages biologiques consistent à apprécier l'activité gonodotrophique du sang ou de l'urine par étude des réactions des gonades de l'animal injecté; Le plus couramment utilisé est le dosage des gonadotrophines urinaires totales (G.U.T.)

Extraites des urines des 24 heures et injectées à un lot de souris, les hormones protéiques agissent sur leurs ovaires qui sécrètent des oestrogènes responsables, soit de la kératinisation vaginale, soit de la croissance pondérale de l'utérus

A - 2 - b - Dosages immunologiques

Les dosages immunologiques sont basés sur une réaction d'inhibition de l'hémagglutination. Ils sont pratiqués par un

.../...



laboratoire entraîné et compétent, soit sur les urines des 24 heures, soit sur les urines émises le matin au lever.

A - 2 - c - Dosages radio-immunologiques

Les dosages radio-immunologiques des hormones génitales s'effectuent à partir du plasma sanguin. Ils associent la spécificité des méthodes immunologiques à la sensibilité des méthodes de détection des produits radioactifs. Ces méthodes nécessitent un appareillage complexe et des techniciens spécialisés. Elles conviennent particulièrement pour le dosage des gonodotrophines hypophysaires dont le taux sanguin est très bas. Elles ont également été utilisées pour la recherche de l'oestrone et de progesterone dans les espèces où le taux sanguin de ces hormones est aussi très bas et ne permet pas l'utilisation des autres méthodes

La complexité des méthodes de dosage directes et leur prix de revient ont conduit à la recherche d'évaluation de l'état hormonal par des méthodes indirectes et en particulier par les variations structurales des muqueuses génitales.

VI - B) Diagnostic hormonal par recherche des modifications cycliques des muqueuses du tractus urogénital

Sous l'action des hormones sécrétées par l'ovaire, les épithélia en général et ceux des muqueuses uro-génitales en particulier, subissent des transformations cycliques que nous avons déjà signalées. Ces modifications ont été utilisées pour effectuer le "diagnostic hormonal de la phase du cycle". Elles reposent sur l'examen de biopsie de l'endomètre ou du vagin et sur la réalisation des frottis vaginaux et urinaux.

VI - B - 1 - Biopsie de l'endomètre

La biopsie de l'endomètre consiste à prélever avec une pince spéciale un fragment de l'épithélium utérin.

.../...

La pince à biopsie de l'endomètre est une pince terminée par deux petites cupules tranchantes.

L'opérateur introduit la pince dans l'utérus (par cathétérisme du col) et à l'aide des cupules tranchantes, sectionne un petit fragment d'épithélium.

L'étude histologique du prélèvement permet l'appréciation de la structure et par conséquent celle du fonctionnement hormonal sexuel qui en est responsable.

#### VI - B - 2 - Biopsie vaginale

Plus facile à pratiquer parce que ne nécessite pas le cathétérisme du col, la biopsie de l'épithélium vaginal permet son analyse histologique et les mêmes déductions. Elle néglige cependant le facteur le plus intéressant d'analyse : la fraction desquamée de l'épithélium qui représente l'élément le plus important de l'appréciation de l'état hormonal.

#### VI - B - 3 - Frottis vaginaux

La méthode des frottis vaginaux consiste dans l'étude de la portion desquamante de l'épithélium vaginal. Le prélèvement s'effectue au niveau du fornix. Il est ensuite étalé sur une lame et coloré. Les méthodes de coloration classiques sont basées sur le principe des affinités tinctoriales. Certaines méthodes modernes reposent sur l'identification histochimique des lipides.

#### VI - B - 3 - a) Colorations classiques

C'est en 1847 que POUCHET, Docteur en médecine et professeur de Zoologie au Musée d'Histoire Naturelle de Rouen, eut l'idée d'examiner des frottis vaginaux de la femme pour comparer leurs caractéristiques aux différents stades du cycle ovarien. Il distingua 3 phases dans une période intermestruelle.

.../...

Au cours de la première phase la desquamation épithéliale est abondante et les sécrétions vaginales épaissies. Pendant la seconde phase, les sécrétions deviennent plus fluides et pauvres en cellules. Elles redeviennent plus épaissies et plus riches en cellules pendant la troisième phase.

Près d'un demi siècle plus tard, en 1889, MOREAU (cité par PREVOST (1957) met en évidence l'existence de modifications périodiques de l'épithélium vaginal ~~des rongeurs que confirment~~ 3 années plus tard, LATASTE et RETTERER (1892) HEAPE) et VAN HERWERDE (1894) sur la guenon ~~il publient la première~~ description cohérente des éléments cellulaires des frottis vaginaux des mammifères.

En 1917, STOCKARD et PAPANICOLAOU (1917) effectuent les premières études cytologiques systématiques des frottis vaginaux. Chez le cobaye ils identifient des cellules kératinisées dont ils lient la présence à l'oestrus et à l'ovulation. Puis PAPANICOLAOU (1925) perfectionne sa méthode et établit en 1923 des rapports précis entre les modifications cytologiques et les périodes du cycle. En 1925 il étend sa méthode au diagnostic de la grossesse.

Après la publication de ces travaux fondamentaux, la méthode est d'abord appliquée à la médecine humaine, LEHMANN (1921) reprend les travaux de MOREAU et distingue 4 types de frottis caractérisés par les rapports entre cellules épithéliales et leucocytes, et les rattache aux 4 phases du cycle ; mais ce n'est qu'avec les travaux de PAPANICOLAOU et de SHORR (1923) que l'influence des hormones hypophysaires et ovariennes est valablement systématisée pour la cytologie vaginale de la femme.

Depuis de très nombreux travaux et des ouvrages spécialisés ont été publiés, trop nombreux pour être cités ici.

En médecine vétérinaire, les essais d'application sont beaucoup plus rares. MURPHEY (1924), METZGER et

.../...

PREY (1926), JAUKOWSKI (1932), BOHL (1933) BERTHELOM (1939), HAMSEL, ASDEL et ROBERTS (1949), étudient les frottis vaginaux de la vache. THIERY (1953) étend l'investigation à plusieurs femelles domestiques et met en évidence des modifications cycliques analogues à celles des auteurs précédents.

Plus récemment BORREDOM (1956) chez quelques femelles domestiques (Jument, vache, truie, chienne, chatte, MAZAN (1956) et PREVOST (1957) chez la vache utilisent de nouvelles techniques de coloration. Puis BERTRAND et FERNEY (1957) chez la vache synthétisent les résultats obtenus et préconisent l'extention de la méthode au diagnostic précoce de la gestation. De la masse des travaux publiés à ce jour, il ressort que malgré les similitudes structurales qui rapprochent les épithélia vaginaux des diverses espèces, il existe de grandes différences dans leurs réponses aux actions des hormones génitales.

Le cas le plus favorable est représenté par les rongeurs dont l'épithélium vaginal subit des réactions très prononcées au cours du cycle oestral. Elles se caractérisent par l'action mitogénétique et kératinisante de l'oestrone pendant la phase folliculinique du cycle et l'action mucifiante prépondérante de cette même hormone lorsqu'elle est associée à la progestérone pendant la phase progestative et surtout pendant la gestation.

Ainsi sur les frottis on ne rencontre au moment de l'oestrus que des cellules anucléées et kératinisées, tandis qu'au post-oestrus des cellules nucléées et non kératinisées sont associées à un mucus abondant. Pendant le di-oestrus les frottis vaginaux ne renferment que quelques rares cellules nucléées associées à des polynucléaires.

Les conditions sont moins favorables chez la femme. Dès 1926 KING pense qu'il n'est pas possible de déceler dans les frottis vaginaux humains, des indications précises sur

.../...

l'évolution du cycle menstruel :

MOSER en 1928, après l'étude de frottis vaginaux sur dix jeunes filles vierges, arrive à la même conclusion.

Les améliorations des méthodes de coloration permettent de nos jours des conclusions plus favorables que celles de ces deux auteurs. PUNDEL en 1950 élabore une systématisation cytologique des frottis vaginaux dans lesquels il distingue 3 types cellulaires principaux : les cellules basales arrondies ou ovalaires, les cellules intermédiaires plus grandes et ovoïdes et les cellules superficielles de forme polyédrique.

Les critères de variations qu'il retient pour la femme sont l'aspect des cellules, l'importance de la desquamation et la présence des leucocytes.

Pendant la phase folliculaire, les cellules du frottis sont de type superficiel. Leur cytoplasme est clair et elles prennent bien les colorants. Après l'ovulation, elles deviennent plicaturées.

La desquamation peut se faire sous forme de placards plus ou moins grands ou de cellules isolées pendant la phase folliculaire. Les placards existent dans la phase post-menstruelle, ils diminuent rapidement en nombre, pour réapparaître après l'ovulation, dans la phase moyenne de lutéinisation.

Les leucocytes apparaissent dans les frottis après l'ovulation. Ils sont toujours nombreux quelques jours avant la période de menstruation et disparaissent peu après.

En 1957, après de nouvelles recherches, PUNDEL montre que la période d'ovulation est décelable sur les frottis vaginaux de la femme. Elle correspond à l'apparition des cellules plissées et groupées en placards épais.

Toutefois, les variations individuelles ne permettent qu'un diagnostic de présomption.

En médecine vétérinaire les résultats sont variables avec les espèces :

Si récemment PELLEQUERRE (C) née BEUX (1971) a montré que chez la chienne les frottis vaginaux permettaient de détecter l'hyper-oestrogénie, les inflammations vaginales et le moment propice de l'insémination artificielle, la discrimination des diverses phases du cycle est beaucoup plus complexe pour d'autres espèces. Chez la brebis (SANGER, ENGLE et BELL et al. ) en 1958 la vache dont nous étudierons les frottis en détail dans la deuxième partie de ce travail, les résultats publiés sont souvent contradictoires.

Chez la jument, LESBOUYRIES et WIKTOR (1947) et BORREDON (1956) concluent que l'examen des frottis vaginaux n'a de valeur que s'il est associé à l'examen macroscopique du vagin et du col et aux renseignements que peut donner l'examen clinique de la femelle.

Les résultats souvent aléatoires que nous venons de résumer ont conduit les chercheurs vers l'exploitation d'autres techniques comme la recherche des lipides et l'urocytogramme.

#### VI - B - 3 - b - Recherche des lipides

En 1940 VAN DYKE étudie la répartition des lipides sur les frottis vaginaux de la guenon et note leur augmentation, en particulier celle des phospholipides, pendant la phase progestative du cycle.

Complétant ce travail exploratoire, BIBBO, CAMARGO et VALERI (1969) montrent en par étude au chromatographe du liquide de rinçage vaginal, que chez la femme les triglycérides augmentent pendant la phase oestrogénique et diminuent pendant la phase "progestéronique", tandis que les phospholi-

plides et le cholestérol varient en sens inverse.

En 1964 MASIN (F.) et MASIN (M.) mettent en évidence des variations cycliques des granulations soudanophiles des cellules vaginales de la femme.

En 1972, MAILLET, ANTHONIOZ et BOUTON utilisent la technique d'Herxheimer et mettent en évidence dans les cellules superficielles et intermédiaires des granulations soudanophiles dont le nombre, l'aspect et la répartition présentent des modifications cycliques caractéristiques des différentes phases du cycle.

Plus récemment encore CHIARASINI et MANGUELLE-DICOM en 1974 travaillant sous la direction du professeur MAILLET, montrent que chez la ratte pubère les lipides intracytoplasmiques se présentent sous des aspects caractéristiques aux différentes phases du cycle.

Au moment de l'oestrus leur taux est le plus élevé, et les granulations intracellulaires sont plus nombreuses, plus petites et plus fréquentes dans les cellules du frottis (90 à 100 pour cent) qu'aux autres périodes. Le post-oestrus se traduit par une diminution importante des lipides intracytoplasmiques dont les granulations confluent pour former des masses peu nombreuses et présentent dans 10 à 20 pour cent seulement des cellules. Le phénomène de réduction des lipides s'accroît encore au dioestrus. Les gros grains formés par confluence sont alors peu nombreux, irrégulièrement répartis et présents dans moins de 5 pour cent des cellules.

Au cours du pro-oestrus le taux des lipides augmente et se traduit par l'apparition de fines granulations qui confèrent progressivement au frottis l'aspect de l'oestrus.

Selon tous ces auteurs la méthode de diagnostic hormonal de la période du cycle par détection des lipides intra-

cytoplasmiques est plus simple à réaliser et plus sûre que les méthodes classiques de coloration des frottis vaginaux. C'est la raison pour laquelle elle a été employée pour les urocytogrammes, en même temps que les méthodes classiques.

VI - B - 4 - Urocytogramme et diagnostic hormonal de la période du cycle oestral

L'action des hormones responsables du déroulement du cycle oestral sur les épithélium de l'organisme, tels ceux des muqueuses nasale, buccale, de la conjonctive de l'oeil ou ceux du tractus urinaire, sont classiquement connus.

Pour ce dernier appareil, c'est RAYNAUDL qui, mit en évidence en 1937 l'action de la dihydrofolliculine sur les épithélium de la vessie et de l'urètre du chat. En 1944 BIOT constate que les variations cycliques du revêtement urinaire sont en rapport avec le cycle menstruel de la femme et montre qu'elles peuvent être utilisées comme test d'ovulation.

L'impulsion de recherche était donnée et tour à tour, DEL CASTILLO (1948 et 1949), MAC CALLIN, TAYLOR et WIN TEHEAD (1950), LENCIONI (1953), GALLI MAININI (1956), POLLOSON et HAOUR (1956), MARSAN et ALA'I (1965) GENOVE (1967), HAOUR (1970), BUR (1974) et MAILLET, CHIARASINI et CUVE (1974, 1974-1975 et 1976) montrent l'intérêt de l'urocytogramme comme indicateur des sécrétions hormonales ovariennes de la femme et la sensibilité particulière de l'épithélium du trigone vésical qu'expliquent les similitudes histologiques et embryologiques qu'il présente avec le vagin.

L'analyse des frottis réalisés à partir du culot de centrifugation d'urine de la première miction matinale s'effectue comme celle des frottis vaginaux. La technique de coloration la plus fréquemment employée est celle de HARRIS-SHORR et l'examen repose sur l'établissement des pourcentages des cellules basales, des cellules intermédiaires, des cellules superficielles et des squames cornées non nucléés.



Récemment enfin, MAILLET et CHIARASINI (1974) ont montré que les granulations lipidiques soudanophiles des cellules trigonales varient en nombre, aspect, confluence et répartition sous l'action "oestrogénique" de la digitaline chez la femme ménopausée. Ils ont ouvert ainsi la voie à l'analyse de l'urocytogramme par mise en évidence des lipides.

DEUXIEME PARTIE

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

DIAGNOSTIC DES PHASES DU CYCLE OESTRAL

CHEZ BOS TAURUS

Les tests de diagnostic des phases du cycle oestral repertoriés dans le chapitre précédent ne sont pas tous applicables à "Bos taurus". Nous examinerons successivement les modifications du comportement et de l'appareil génital propres à cette espèce, l'utilisation du taureau boute-en train, la courbe thermique, la biopsie de l'endomètre et du vagin, les caractères du mucus, le dosage des hormones ovariennes et les frottis vaginaux. Nous insisterons plus particulièrement sur ces derniers qui sont souvent utilisés.

## CHAPITRE PREMIER

### MODIFICATIONS DU COMPORTEMENT

#### ET DE L'APPAREIL GENITAL

Les modifications du comportement de l'animal et celles cliniquement perceptibles de l'appareil génital sont communément utilisées pour identifier la phase de l'oestrus chez la vache.

Dans cette espèce en effet, l'oestrus se traduit par la nervosité de la femelle, par la tendance à "monter" sur les autres animaux du troupeau et à se laisser monter par eux, par la diminution de l'appétit et de la production lactée, par la congestion et l'excitabilité de la vulve et par la sécrétion translucide et visqueuse d'un mucus vaginal abondant.

Tous ces signes qui constituent les "chaleurs", sont habituellement assez accusés et assez caractéristiques pour attirer l'attention de l'éleveur ou de l'inséminateur.

Cependant, les manifestations extérieures de l'oestrus sont parfois discrètes et peuvent même passer inaperçues plus particulièrement en hiver et chez les femelles en stabulation permanente. Dans ce cas ou dans celui des troubles du déroulement normal du cycle, il convient alors de recourir à d'autres méthodes.

## CHAPITRE II

### LE TAUREAU BOUTE-EN-TRAIN

Le taureau boute-en train est un mâle entier mis dans l'impossibilité d'effectuer la saillie mais capable de détecter les femelles en chaleurs. La saillie est rendue impossible par la mise en place d'un "tablier", la déviation

.../...

permanente du pénis ou les techniques de stérilisation permettant de conserver la sécrétion endocrine de la gonade.

La technique de la pose du tablier est simple mais plus utilisée chez le bélier boute-en-train que chez le taureau qui s'adapte souvent mal à la contrainte qu'il impose.

Les techniques de stérilisation reposent sur des interventions qui visent à supprimer le transit des gamètes dans les voies génitales. Les plus utilisées sont la vasectomie et l'épididymectomie.

La vasectomie consiste à ligaturer et à sectionner les canaux déférents. Elle est pratiquée habituellement sur des sujets de 4 à 5 mois.

L'épididymectomie consiste en la ligature et la section de la queue de l'épididyme après incision limitée et localisée des enveloppes testiculaires.

Les taureaux vasectomisés ou épididymectomisés sont utilisés pour détecter les vaches en chaleurs. Ils peuvent saillir la femelle sans la fertiliser et permettre automatiquement son identification s'ils sont porteurs d'un dispositif marqueur.

La technique de déviation du pénis consiste à oblitérer l'orifice préputiale naturel et à en créer un autre sur le côté de ce fourreau dont la fonction est de dévier latéralement le pénis au moment de l'érection.

Le taureau à pénis dévié est ainsi mis dans l'impossibilité de conduire le coït. Il sert comme les taureaux vasectomisés ou épididymectomisés à dépister les femelles en chaleurs.

En zone tropicale, la vasectomie, l'épididymectomie et la déviation du pénis présentent l'inconvénient de se compli-

quer souvent d'infections secondaires des plaies chirurgicales.

### CHAPITRE III

#### LA COURBE THERMIQUE

Chez la vache, la recherche des variations de la courbe thermique ne constitue qu'une "simple méthode d'appoint au dépistage de l'oestrus (FERNEY (1965))

Elle nécessite des relevés journaliers avec des thermomètres spéciaux pour détecter des variations thermiques très faibles.

Dans cette espèce la dénivellation thermique, contemporaine de l'oestrus, est en effet très réduite. Elle est aussi inconstante.

La courbe thermique subit enfin de fréquentes fluctuations par interférences métaboliques ou pathologiques dont la détection est souvent impossible. La méthode est donc très peu utilisée.

### CHAPITRE IV

#### LA BIOPSIE DE L'ENDOMETRE OU DU VAGIN

La biopsie de l'endomètre ~~ou~~ du vagin en tant que moyen d'identification des phases du cycle, présente aussi de nombreux inconvénients.

Le prélèvement du fragment nécessite l'emploi d'un spéculum souvent mal toléré par l'animal. Le morceau d'épithélium

prélevé est toujours très réduit et les renseignements qu'il fournit à l'examen histologique, ne se rapportent que sur une portion infime du tractus génital dont des facteurs pathogènes ou métaboliques locaux ont pu modifier l'effet des hormones génitales.

Pour ces raisons la méthode n'est pas utilisée couramment pour le diagnostic des différentes phases du cycle. Ses indications se limitent aux études des états histologiques de l'endomètre liés à la stérilité fonctionnelle et à la recherche de maladies comme la tuberculose ou les lésions particulières du vagin ou de l'endomètre.

## CHAPITRE V

### ETUDE DU MUCUS

Le mucus de la cavité vaginale peut être directement observé lorsqu'il s'écoule à l'oestrus de l'orifice vulvaire. Les variations qu'il présente au cours du cycle ont conduit nombre d'auteurs à imaginer des techniques particulières de prélèvement afin d'en pratiquer l'examen, d'en apprécier les propriétés physiques ou d'en observer les images de dessiccation sur lame.

#### I - TECHNIQUES DE PRELEVEMENT

A l'occasion des prélèvements pour frottis vaginaux, une petite quantité de mucus est recueillie et permet déjà certaines observations. Mais une étude plus complète de cette sécrétion nécessite des techniques spéciales que BORREDON (1956) a exposées en 1956.

I - A - Prélèvement du mucus par aspiration

La technique de "prélèvement du mucus par aspiration" se pratique à l'aide d'une pipette d'insémination artificielle réunie à une seringue par l'intermédiaire d'un tube de caoutchouc. L'aspiration peut également être pratiquée avec une poie montée à l'extrémité d'un tube de matière plastique .

I - B - Méthode du test-tampon

La méthode du test-tampon nécessite un tube en matière plastique à l'intérieur duquel coulisse un mandrin qui peut être une simple baguette de bois. L'extrémité de l'appareil porte un tampon de gaze fixé à un long fil qui permet de le retirer. Introduit dans le cul de sac crânial du vagin à l'aide du mandrin, le tampon de gaze est laissé en place pendant une vingtaine de minutes puis extrait et introduit dans un tube à essai stérile.

I - C - Prélèvement par raclage

Le prélèvement du mucus par raclage s'effectue avec une cuiller mousse montée sur un long manche. Le mucus est prélevé dans le fornix par raclage de la muqueuse.

III - EXAMEN DU MUCUS A L'ETAT FRAIS

Après sa récolte, le mucus peut être, dans un premier temps, examiné à l'état frais.

Les variations qu'il présente aux diverses phases du cycle sont rapportées dans un travail publié par HERRICK (1951) qui montre en outre que le mucus contenu dans le vagin provient en grande partie du "cervix".



Pendant l'oestrus, il est fluide, filant et abondant. La sécrétion cervicale est forte à cette période au cours de laquelle l'épithélium est intensément irrigué et riche en cellules gorgées de mucus.

La rupture de ces cellules est suivie de la chute du produit de sécrétion dans la lumière cervicale puis de son écoulement dans le vagin.

Durant le post-oestrus, la surcharge des cellules cervicales en mucus a cessé. Le mucus vaginal devient alors d'autant moins abondant, plus épais et plus adhésif que l'on s'éloigne de la période des chaleurs.

Au moment du di-oestrus, les cellules cervicales se chargent à nouveau en mucus, mais ne se rompent qu'exceptionnellement. Le mucus vaginal reste rare.

Au pro-oestrus, les cellules à mucus s'hypertrophient. Elles se vident dans la lumière cervicale jusqu'à l'oestrus prochain.

Au cours de la gestation, les caractères du mucus de la phase "progestative" (mucus peu abondant, épais, cohésif) s'accusent .

Il devient collant et épais et obstrue le col en formant un bouchon muqueux.

La viscosité du mucus peut être mise en évidence par le test de SPINNBARKEIT dont nous avons décrit le principe dans la première partie de ce travail. Elle est maximum à la fin du pro-oestrus et diminue à mesure qu'approche la fin de l'oestrus.

Le pH du mucus vaginal des bovins est moins acide que celui de la femme. ROMMEL (W.) et ROMMEL (P.) le situent

.../...

selon les sujets entre 7,03 et 8,60. Il est peu variable selon BROWN (1944), et ne présente qu'un faible accroissement de l'alcalinité au moment de l'oestrus. Par contre PEREZ Y PEREZ (1960) note un abaissement brutal du pH au moment des chaleurs.

Le pH du mucus des taurins, en raison des variations individuelles considérables qu'il présente, de la faible amplitude et de l'inconstance de ces variations au cours du cycle, ne peut donc être retenu comme un critère valable. Par contre son aspect, son abondance, sa consistance et sa viscosité qui subissent des modifications cycliques importantes, peuvent être d'une grande utilité pour la détermination des phases du cycle oestral.

### III - EXAMEN DU MUCUS DESSECHE SUR FROTTIS

A l'état desséché sur frottis, le mucus présente des formes de cristallisation différentes selon la période du cycle. Les plus caractéristiques sont les images dites "ptéridiennes" ou en "feuilles de fougère". Selon PREVOST (1957), elles sont particulièrement fréquentes au moment des chaleurs et toujours absentes au cours du post-oestrus et pendant la gestation.

Mais ces images sont sujettes à de nombreuses variations individuelles ou saisonnières. BERTRAND et FERNEY ( ) ont montré en 1956 que ces formations ptéridiennes normalement absentes ou "bâtardes" au cours de la gestation, peuvent réapparaître quelques semaines avant le part.

Des images en forme de spermatozoïdes ont été aussi décrites. Mais elles apparaissent à toutes les époques du cycle. PREVOST dit ne les avoir jamais observées pendant la gestation.

## CHAPITRE VI

### DIAGNOSTIC DES PHASES DU CYCLE OESTRAL PAR DOSAGE HORMONAL

Le diagnostic des phases du cycle oestral par dosage des hormones hypophysaires et ovariennes n'est pas utilisable par les méthodes habituelles. Ces dernières sont en effet incapables de mettre en évidence les variations des niveaux hormonaux en raison de leur faible niveau et de leur faible amplitude. Les taux plasmatiques des oestrogènes chez la vache sont très faibles. C'est pourquoi pendant longtemps on ne pouvait mesurer que l'oestrogénurie : 26 à 183 microgrammes par 24 heures par 10 litres d'urine.

BERTRAND et DESCHANEL (1970) citent les taux suivants : 3 milligrammes de  $17\beta$  oestradiol, 28 milligrammes d'oestrone et 46 milligrammes de  $17\alpha$  oestradiol par 24 heures par urine.

Les taux de progestérone cités par RAESIDE et TURNER (1955) et par SHORT (65), sont de l'ordre de 0,20 microgramme par 100 ml de plasma et les différences entre les taux relevés avant et après l'ovulation sont peu significatives. SULLIVAN ( ) trouve les chiffres suivants : 0,30 microgramme par 100 ml de plasma le jour de l'oestrus, 0,60 microgramme par 100 ml de plasma 6 jours plus tard et 0,30 microgramme par 100 ml de plasma au 18ème jour.

Le taux des métabolites urinaires est encore plus bas en raison de la faible quantité de progestérone qui circule dans le sang.

Chez les bovins, les dosages des hormones hypophysaires et ovariennes ne sont réalisables que par la méthode radio-immunologique qui nécessite au prélèvement des pré-

.../...

cautions particulières de conservation par le froid, et au laboratoire un matériel complexe et onéreux et des techniciens hautement spécialisés. C'est dire qu'ils sont loin d'être encore utilisables en pratique courante.

## CHAPITRE VII

### LES FROTTIS VAGINAUX

L'action très nette des hormones génitales sur l'épithélium et les sécrétions vaginales de "Bos taurus", et la relative simplicité d'élaboration et de lecture des frottis vaginaux ont conduit par contre de nombreux auteurs à étudier la cytologie vaginale des bovins des régions tempérées.

Des auteurs déjà cités dans la première partie nous ne retiendrons ici que ceux qui par leurs travaux ont marqué les étapes les plus importantes des progrès réalisés dans les techniques de coloration et les méthodes d'analyse de ces frottis.

#### I - TRAVAUX DE FREY ET MEITZGER (1926) ET MURPHEY (1932)

Après FREY et MEITZGER qui furent les premiers à utiliser la méthode des frottis vaginaux chez la vache, MURPHEY en 1932 a recouru à cette méthode. Les résultats publiés par ces trois auteurs sont sensiblement les mêmes. Nous les rapporterons ensemble.

Les prélèvements sont pratiqués à l'aide d'un spéculum et d'une baguette de verre et les frottis colorés à l'hématoxyline. Les modifications cytologiques observées

.../...

ne sont caractéristiques que pour deux phases du cycle : au pro-oestrus, de nombreuses cellules épithéliales perdent leur noyau et présentent un certain degré de kératinisation. Le frottis est dépourvu de leucocytes.

A l'oestrus deux types de cellules prédominent : des grandes cellules desquamées polygonales et anucléées et des cellules isolées, irrégulièrement arrondies avec un petit noyau pycnotique ; les leucocytes sont toujours absents à cette période du cycle.

Les résultats de FREY, MEITZGER et de MURPHEY paraissent bien incomplets si on les compare à ceux des travaux les plus récents. Leur méthode de coloration les prive de toute donnée sur l'affinité tinctoriale et les types cellulaires sont incomplètement identifiés. Ils constituent cependant les travaux fondamentaux sur la cytologie vaginale de la vache et c'est pour cette raison que nous les avons cités.

## II - TRAVAUX DE HANSEL, ASDEL ET ROBERTS

En 1949, HANSEL, ASDEL et ROBERTS (1949) effectuent aux Etats Unis d'Amérique une étude systématique et colorent les frottis par la méthode de SHORR. Ils apportent des renseignements intéressants sur le lieu d'élection des prélèvements, l'identification des types cellulaires et leur répartition pendant les différentes phases du cycle.

### II - A - Lieu d'élection

Pratiquant des prélèvements en plusieurs points du vagin, HANSEL, ASDEL et ROBERTS montrent que les frottis de la région justa cervicale présentent les variations les

plus importantes.

## II - B - Types cellulaires identifiés

### II - B - 1 - De la couche basale

(stratum basale), HANSEL, ASDEL et ROBERTS identifient une cellule petite (10 à 15  $\mu$ ), ronde, à contour net, à noyau gros, central et coloré en noir et à cytoplasme peu abondant, coloré en bleu ou vert, qu'ils désignent sous le nom de type I.

### II - B - 2 - De la couche intermédiaire

(stratum intermedium) ils décrivent des cellules plus grandes (18 à 30  $\mu$ ), larges, arrondies, à contour net, à noyau ovale et plus petit que celui du type I, à cytoplasme plus abondant et bleu verdâtre, qu'ils désignent sous le nom de type II.

### II - B - 3 - De la couche superficielle

HANSEL, ASDEL et ROBERTS identifient trois types cellulaires :

. des cellules auxquelles ils donnent le nom de type IV caractérisées par leur basophilie, leur grande taille (20-30  $\mu$ ), leurs bords diffus et souvent repliés, leur noyau parfois pycnotique et de même couleur gris bleu que le cytoplasme d'aspect granuleux.

. des cellules basophiles dites de type V qui présentent toutes des signes de dégénérescence : bords mal définis, noyaux fragmentés ou absents et souvent réduits, à de simples fragments allongés.

.../...

. des cellules de type III, les seules qui soient acidophiles et kératinisées. Leur cytoplasme est granuleux, jaune, rose ou rouge, leur noyau souvent excentrique est pycnotique et coloré en violet. Leur contour est variable, mais souvent anguleux. Elles s'observent le plus souvent en plaques au sein du mucus.

### II - C - Variations cytologiques au cours du cycle oestral

Pour HANSEL, ASDEL et ROBERTS les faits suivants caractérisent les frottis vaginaux de la vache :

Contrairement aux observations effectuées dans les autres espèces animales, les frottis vaginaux de la vache renferment peu de cellules kératinisées au moment de l'oestrus. A cette période du cycle, la plupart des cellules épithéliales que l'on trouve dans les frottis sont superficielles et nucléées, (type IV de HANSEL, ASDEL et ROBERTS) leur noyau est souvent pycnotique.

. Pendant les deux premiers jours qui suivent l'oestrus, la plupart des cellules observées sont ainsi du type IV. Celles du type III (superficielles acidophiles et kératinisées) apparaissent mais sont moins fréquentes que les précédentes et celles du type I couche basale, ainsi que les leucocytes sont rares.

. Entre le 2e et le 9e jour qui suivent l'oestrus, les cellules kératinisées du type III sont peu nombreuses sauf les 3e et 4e jour. Les champs microscopiques sont dominés par les cellules superficielles de type IV. Celles des types I (basales) et II (intermédiaires) n'apparaissent en petit nombre qu'à partir du 8e jour.

Les leucocytes sont rares.

.../...

. Entre le 9<sup>e</sup> et le 16<sup>e</sup> jour après l'oestrus, les cellules kératinisées augmentent fortement et leur taux reste élevé jusqu'au 16<sup>e</sup> ou 17<sup>e</sup> jour. A cette période, les cellules du type II, basophiles et de la couche moyenne, sont assez nombreuses et les leucocytes apparaissent.

. Du 16<sup>e</sup> jour du cycle à l'oestrus, le taux des cellules kératinisées commence par décroître puis il augmente jusqu'au début du post-oestrus. Les cellules basophiles des types II (couche moyenne) et IV (couche superficielle) prédominent jusqu'au 19<sup>e</sup> ou 20<sup>e</sup> jour. Puis un grand nombre de cellules du type I (couche basale) apparaissent et les leucocytes sont nombreux.

### III - ETUDES DE THIERY (1953)

En 1953 THIERY publie les principaux travaux réalisés dans le monde francophone.

#### III - A° - Lieu d'élection

Il effectue les prélèvements au coton cardé sur le plafond du vagin et à la jonction du 1/3 caudal et du 1/3 moyen et utilise la technique de coloration de LICHTWITZ et coll. légèrement modifiée (glycéralun stabilisé de CARAZZI, écarlate de Biebrich et colorant T 283).

Les résultats qu'il donne se rapportent aux types cellulaires des frottis et à leurs variations au cours du cycle.

#### III - B° - Types cellulaires de THIERY

Par examen des frottis, THIERY détermine 5 varié-  
.../...



riétés de cellules épithéliales.

III - B - 1 -

Il identifie un type cellulaire de la couche basale : les cellules 1 en tous points identiques aux cellules de type I de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

III - B - 2 -

Comme ces derniers il identifie aussi des cellules dites cellules 2 qui correspondent à la couche intermédiaire.

III - B - 3 -

Dans la couche superficielle THIERY décrit trois types cellulaires :

. Les cellules 3 sont basophiles et colorées en vert pâle. Elles sont grandes et polygonales et leur noyau est gros et clair. Elles correspondent vraisemblablement au type IV de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

. Les cellules 4 sont acidophiles et colorées en rouge géranium. Leur noyau est condensé. Elles correspondent vraisemblablement aux cellules acidophiles du type III, à noyau pycnotique de HANSEL et coll.

. Les cellules 5 de THIERY sont "cornifiées" et anucléées. Elles sont colorées en orange. Elles correspondent sans doute aux cellules de type III, kératinisées, des auteurs américains.

.../...

III - C - Variations cytologiques au cours du cycle oestral

III - C - 1 - Durant le pro-oestrus

L'auteur note un enchevêtrement de grandes cellules superficielles souvent agglomérées entre elles. Leurs contours ne sont pas nets et leur noyau est pycnotique.

III - C - 2 - Pendant l'oestrus

Les leucocytes envahissent le frottis à partir du 3e jour et les cellules ont des contours bien marqués.

III - C - 4 - Au moment du di-oestrus

Les cellules en voie de destruction ont des limites moins nettes ; mais une partie d'entre elles ne se lysent pas. Elles se kératinisent et se traduisent sur les frottis par des amas éosinophiles.

IV - ETUDE DE MAZAN (1956)

A la suite des résultats encourageants obtenus par THIERY, MAZAN en 1956 reprend l'étude.

IV - A° - Technique

MAZAN effectue les prélèvements à l'aide d'un écouvillon de coton cardé et pratique la coloration des frottis par la méthode de MAGENDIE-CATOR et Mme J. BERNARD à base de glychemalun stabilisé et colorant RC. 200 (cité par PREVOST (1957)).

#### IV - B° - Types cellulaires identifiés

Contrairement aux auteurs précédents MAZAN n'identifie que trois types cellulaires :

##### IV - B - 1 - De la couche intermédiaire

MAZAN décrit des cellules basophiles ovoïdes ou rondes et habituellement associées en chapelet. Leur cytoplasme est vacuolaire et leur noyau, central, est bien individualisé. Elles correspondent aux cellules 2 de THIERY et au type II de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

IV - B - 2 - Les cellules de la couche superficielle correspondent aux deux autres types et sont selon MAZAN toutes acidophiles.

. Les cellules acidophiles non kératinisées sont plates et de forme allongée ou arrondie. Leur cytoplasme coloré en rose, présente quelques granulations refringentes et leur noyau est rouge plus sombre. Elles sont rarement isolées.

. Les cellules acidophiles kératinisées sont identiques, par la taille et la coloration, aux précédentes. Elles sont le plus souvent isolées. Leur forme est quadrangulaire et leurs bords frangés sont souvent repliés. Elles sont anucléées.

Les cellules acidophiles kératinisées de MAZAN correspondent au type III kératinisé de HANSEL, ASDEL et ROBERTS et aux cellules 5 de THIERY, les cellules acidophiles non kératinisées de MAZAN aux cellules 4 de THIERY et vraisemblablement au type III non kératinisé et anucléé de HANSEL, ASDEL et ROBERTS, la différence d'affinité tinc-

.../...

toriale résultant de la méthode de coloration.

IV - C - Variations cytologiques au cours du cycle

IV - C - 1 - Au moment de l'oestrus

Les cellules sont en majorité acidophiles et non kératinisées, isolées ou associées en placard.

IV - C - 2 - Au post-oestrus

Les cellules acidophiles cornées apparaissent mais sont peu nombreuses et souvent isolées.

Les leucocytes sont abondants.

IV - C - 3 - Durant le di-oestrus

On n'observe que de rares cellules de la couche intermédiaire, arrondies ou ovoïdes et des leucocytes.

V - ETUDES DE BORREDON (1956)

La même année que MAZAN, BORREDON (1956) fait le bilan de ses observations sur la cytologie vaginale d'une série de femelles domestiques. Nous ne rapporterons que les travaux relatifs aux bovins.

V - A - Technique

Le prélèvement est pratiqué au coton cardé et les colorations effectuées comparativement par les méthodes

.../...

de PAPANICOLAOU (à base de l'hématoxyline de Harris, de l'oranger et d'un colorant polychrome composé d'un mélange d'éosine, de vert lumière, de brun Bismark, d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique), de SHORR (à base de vert lumière, d'orange et de Biebrich écarlate) et de LICHTWITZ modifiée par THIERY. (Voir annexe n° 1) )

#### V - C - Variations cytologiques au cours du cycle

Les variations cytologiques au cours du cycle oestral rapportées par BORREDON confirment les résultats énoncés plus haut. Ils apportent aussi d'intéressantes précisions sur leur évolution au cours de la vie génitale de la femelle.

##### V - C - 1 - Chez la vache

Le frottis d'oestrus est caractéristique. Il est dépourvu de polynucléaires et renferme un pourcentage très élevé des cellules kératinisées. Quelques hématies sont parfois mêlées aux cellules épithéliales.

##### V - C - 2 - Chez la génisse impubère.

Le frottis. Son aspect est différent mais également typique. Les cellules basophiles et les polynucléaires sont très nombreux, tandis que les cellules acidophiles et les cellules kératinisées sont absentes. Elles n'apparaîtront qu'avec le premier cycle.

##### V - C - 3 - Chez la vache castrée

Les frottis ressemblent à ceux des génisses impu-

bérés. Comme eux ils ne renferment que des cellules basophiles et des polynucléaires, mais s'en distinguent par la persistance chez certains sujets d'un faible pourcentage de cellules acidophiles.

## VI - ETUDES DE PREVOST

C'est en 1957 que PREVOST (1957) publie les résultats qu'il a obtenus avec la méthode de coloration mise au point pour la ferme par ISAAC et WURCH (1952).

### VI - A - Lieu d'élection

Le prélèvement est réalisé à l'aide d'un spéculum à tube éclairant et au moyen d'une baguette de verre épaisse, légèrement coudée et garnie à son extrémité d'un petit manchon de caoutchouc. L'auteur utilise également un tampon de gaze monté sur une pince à forci-pression.

### VI - B - Types cellulaires identifiés

Par cette méthode, PREVOST identifie 6 types cellulaires.

#### VI - B - 1 - Les cellules de la couche basale

Les cellules de la couche basale sont représentées par des cellules basophiles petites (10 à 15  $\mu$ ), rondes, à contours nets et réguliers, à cytoplasme peu abondant et disposé en bande étroite autour d'un gros noyau central. PREVOST les désigne sous le nom de type 1.

Elles correspondent aux types 1 de HANSEL, ASDEL, et ROBERTS et aux cellules 1 de THIERY

.../...

VI - B - 2 - Les cellules de la couche intermédiaire

Les cellules de la couche intermédiaire sont représentées par des cellules basophiles plus grandes (20-25  $\mu$ ), ronde ou ovales, à contours réguliers, à cytoplasme plus abondant et à noyau ovale et un peu plus petit. PREVOST les désigne sous le nom de type II. Elles correspondent aux types II de HANSEL, ASDEL et ROBERTS, aux cellules 2 de THIERY et aux cellules basophiles de MAZAN.

VI - B - 3 - Les cellules de la couche superficielle

De la couche superficielle, PREVOST identifie des cellules basophiles et des cellules éosinophiles.

. Les cellules basophiles décrites par PREVOST sont de deux types.

Le type III de PREVOST est formé de grandes cellules à contours irréguliers, à bords diffus et souvent pliés. Leur cytoplasme, teinté en bleu clair, a un aspect granuleux. Leur noyau, très souvent de teinte foncée, peut être ou non pycnotique. Elles correspondent aux cellules 3 de THIERY et au type IV de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

Les cellules basophiles du type IV de PREVOST sont anucléées, très anguleuses et déchirées ou plicaturées. Leur cytoplasme est le plus souvent granuleux.

Sous réserve des variations d'affinités tinctoriales, elles correspondent aux cellules 5 de THIERY et au type V anucléé de HANSEL et coll.

. Les cellules superficielles acidophiles décrites par PREVOST se subdivisent en deux types principaux.

Des grandes cellules (30  $\mu$ ) à bords irréguliers, à cytoplasme rouge intense et à noyau pycnotique.

Des cellules identiques mais anucléées et kératinisées.

Les deux types correspondent aux cellules acidophiles non kératinisées ou kératinisées décrites par MAZAN, aux cellules 4 et 5 de THIERY et aux types III et IV de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

#### VI - C - Variations avec le cycle

Après examen des frottis, PREVOST divise le cycle génital de la vache en 5 périodes.

##### VI - C - 1 - Au moment de l'oestrus

Les cellules basophiles représentent 50 à 80 pour cent de la population cellulaire des frottis dont 40 pour cent en moyenne sont du type III superficiel. Les cellules acidophiles forment 20 à 50 pour cent de la population, les kératinisées représentant environ 1/3 du contingent.

Les cellules de la couche intermédiaire (type II basophile) sont à un taux qui ne dépasse jamais 10 pour cent.

Les leucocytes sont rares et on peut noter quelques fois la présence d'hématies.

L'aspect général du frottis est propre.

.../...



VI - C - 2 - Au cours des deux premiers jours qui suivent l'oestrus, le pourcentage des cellules basophiles intermédiaires de type II augmente et atteint 30 pour cent alors que celui des cellules basophiles superficielles de type III tombe entre 20 à 40 pour cent, et que les cellules basophiles superficielle de type IV sont rares.

A cette période du cycle le taux des cellules éosinophiles tend à baisser mais celui des cellules kératinisées augmente.

Les polynucléaires sont plus abondants surtout vers le 2e jour et les hématies sont rares. Les frottis ne présentent plus l'aspect propre caractéristique de l'oestrus.

VI - C - 3 - Du 2e au 9e jour

Le taux des cellules basophiles atteint 60 à 70 pour cent. Il est représenté par tous les types avec prépondérance du type II de la couche intermédiaire. Le type I de la couche basale représente en moyenne 5 pour cent de la population.

VI - C - 4 - Du 9e au 16e jour après l'oestrus

Les cellules basophiles des types II (couche moyenne) et III (couche superficielle) prédominent. Les cellules éosinophiles sont représentées par de nombreux placards de cellules kératinisées dont la numération est impossible. Les polynucléaires sont assez abondants.

VI - C - 5 - Entre le 16e jour et l'oestrus

Les cellules basophiles sont en nombre variable,

.../...

mais sont caractérisées par la disparition progressive du type 2 au fur et à mesure qu'on se rapproche de l'oestrus au moment duquel ne persistent que les types 3 et 4. Le taux des cellules éosinophiles baisse fortement en particulier celui des cellules kératinisées dont le taux est d'environ 20 à 30 pour cent vers le 18e jour.

Les polynucléaires disparaissent peu à peu pendant cette période. Ils sont très rares à l'oestrus.

Les résultats que nous venons de rapporter sont difficiles à comparer entre eux en raison des différences d'affinités tinctoriales des divers types cellulaires selon la méthode de coloration.

Pour faciliter la comparaison nous présentons dans le tableau n° 11 page 57 les types cellulaires identifiés par divers auteurs en essayant de les faire correspondre entre eux. L'étude de ce tableau montre que, pour les frottis vaginaux de la vache, les deux méthodes de choix sont celle de SHORR utilisées par HANSEL, ASDEL et ROBERTS aux USA et celle de ISAAC-WURCH employée par PREVOST.

L'une et l'autre permettent d'identifier 6 types cellulaires dont 4 superficiels alors que THIERY et BORREDON avec la méthode de LICHTWITZ modifiée, n'en reconnaissent que 5 dont 3 superficiels, celle de MAGENDIE-CATOR et de BERTRAND, à l'hématoxyline trois seulement dont respectivement 2 et 3 des couches superficielles.

En ce qui concerne l'interprétation des frottis, les résultats publiés présentent des contradictions, mais aussi des points de convergence.

Tous les auteurs s'accordent pour admettre que les cellules acidophiles atteignent leur taux maximum aux alentours de l'oestrus. Ils diffèrent cependant sur l'importance de la population des cellules kératinisées qui sont rares à cette période pour FREY, MEITZGER et MURPHEY, HANSEL, ASDEL et ROBERTS, peu nombreuses pour PREVOST et au contraire prédominantes pour THIERY et BORREDON.

Au pro-oestrus les cellules kératinisées sont les plus nombreuses pendant le premier jour (HANSEL, ASDEL et ROBERTS, THIERY, MAZAN et PREVOST). Les jours suivants, ce sont les cellules superficielles basophiles et nucléées qui augmentent selon HANSEL, ASDEL et ROBERTS, THIERY et BORREDON, et au contraire les cellules de la couche intermédiaire pour PREVOST.

Au di-oestrus, les auteurs s'accordent pour signaler la présence de cellules basophiles nucléées superficielles ou intermédiaires sauf HANSEL et coll. qui considèrent les cellules kératinisées comme caractéristiques de cette période.

Le pro-oestrus enfin correspond pour HANSEL, ASDEL et ROBERTS et PREVOST à un accroissement des cellules superficielles et nucléées, basophiles d'abord puis acidophiles et progressivement kératinisées, ces dernières étant considérées comme caractéristiques de cette période du cycle pour FREY, MEITZGER et MURPHEY.

Tableau n° II des identifications cellulaires des frottis vaginaux

(	:	MEITZGER	:	HANSEL	:	THIERY	:	MAZAN	:	PREVOST	)
(	:	FREY et	:	ASDEL et	:	BORREDON	:	(Glychema-	:	Méthode d	)
(	:	MURPHEY	:	ROBERTS	:	(méthode de	:	un stabi-	:	ISAAC et	)
(	:	:	:	:	:	LICHTWITZ	:	lisé et co	:	WURCH	)
(	:	(Hématoxy-	:	:	:	modifiée par	:	lorant RC.	:	:	)
(	:	line)	:	:	:	THIERY et	:	200)	:	:	)
(	:	:	:	:	:	méthodes	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	comparatives	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	Couche	:	:	Type I	:	cellule 1	:	:	:	TYPE I	)
(	basale	:	:	(basophile)	:	(basophiles)	:	:	:	(basophile)	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	Couche in-	:	:	Type II	:	cellules 2	:	cellules	:	Types II	)
(	termédiaire	:	:	(basophile)	:	(basophiles)	:	basophiles	:	(basophiles)	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	cellules nu	:	Type IV	:	cellules 3	:	Types II	)
(	:	:	:	cléées de	:	(basophile)	:	(basophiles)	:	(basophile)	)
(	:	:	:	l'oestrus	:	nucléé	:	nucléées	:	nucléé)	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	Type III	:	cellules 4	:	cellules 4	:	cellules	)
(	:	:	:	(acidophile	:	(acidophi-	:	(acidophiles	:	acidophiles	)
(	:	:	:	nucléé)	:	les	:	nucléées)	:	nucléées	)
(	Couche su-	:	:	nucléées)	:	:	:	:	:	:	)
(	perficielle	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	cellules	:	Type V	:	:	:	Type IV	)
(	:	:	:	anucléées	:	(basophile	:	:	:	(basophile	)
(	:	:	:	de l'oestr-	:	anucléé)	:	:	:	anucléé)	)
(	:	:	:	trus	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	cellules du	:	Type III	:	cellules 5	:	cellules a-	)
(	:	:	:	pro-oestrus	:	(Acidophile	:	(acidophi-	:	cidophiles,	)
(	:	:	:	:	:	anucléé ké-	:	los anu-	:	kératini-	)
(	:	:	:	:	:	ratinisé	:	cléées kéra-	:	sées	)
(	:	:	:	:	:	:	:	tinisées	:	sées	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	)

TROISIEME PARTIE  
-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

RECHERCHES PERSONNELLES

Anatomiquement et fonctionnellement l'appareil génital de "Bos indicus" diffère sensiblement de celui de "Bos taurus". Nous rappellerons les plus importantes de ces particularités avant d'exposer les recherches que nous avons effectuées en traitant successivement du Matériel et des Méthodes puis des résultats obtenus que nous discuterons ensuite.

## CHAPITRE PREMIER

### CARACTERISTIQUES ANATOMIQUES ET FONCTIONNELLES DE L'APPAREIL GENITAL DE LA FEMELLE ZEBU

#### I - CARACTERISTIQUES ANATOMIQUES

Les caractéristiques morphologiques du tractus génital de la femelle zébu ont été décrites par CUQ (1973) et CUQ et coll. (1975).

Nous ne rapporterons que celles qui intéressent la région vaginale.

Le vagin de la femelle zébu est tapissé d'une muqueuse dont l'aspect caractéristique permet de distinguer deux portions de longueur presque égale.

La portion caudale ou lisse du vagin est revêtue d'une muqueuse rosée ou plus ou moins rougeâtre et lisse sur toute son étendue.

La portion crâniale ou plissée du vagin est au contraire tapissée par une muqueuse qui forme une série de 5 ou 6 bourrelets circulaires et transversaux séparés par des vallées étroites.

Le col utérin qui interfère sur presque toute sa longueur dans la cavité vaginale, se présente sous l'aspect d'un

fort relief cylindroïde sur lequel se réfléchissent les bourrelets circulaires. Il est entouré par un fornix vaste et profond de 5 à 9 cm chez la vache adulte qui se traduit extérieurement par une couronne vaginale circulaire massive.

Signalons encore qu'au niveau du vestibule vaginal l'orifice urétral est large et que la portion caudale de l'urètre présente comme chez les taurins un diverticule sous urétral qui peut gêner la progression d'un cathéter vésical mal introduit.

## II - CARACTERISTIQUES FONCTIONNELLES DES ORGANES GENITAUX DE LA FEMELLE ZEBU

Les particularités de la vie génitale de la femelle zébu résultent de l'adaptation de l'espèce au milieu tropical. Elles sont aussi la conséquence des caractéristiques structurales et fonctionnelles des ovaires de cette espèce.

Les premières ont été mises en évidence par les zootechniciens. Les secondes par des recherches entreprises au laboratoire d'anatomie, histologie et embryologie de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (E.I.S.M.V.) de DAKAR depuis la création de cet établissement en 1968.

### II - A - Etude zootechnique des particularités de la vie génitale de la femelle zébu

Les très nombreuses observations faites par les zootechniciens ont permis de préciser un certain nombre de caractéristiques de la vie génitale de la femelle zébu.

#### II - A - 1 - Age de la puberté

La puberté correspond au premier cycle évolutif qui

.../...

aboutit à une ovulation. Elle est détectée, en pratique, par l'apparition du premier corps progestatif (PLASSE et coll. 1965; RAKHA et coll. 1970) ou par l'observation des premières chaleurs visibles (CHOUDHURY et coll. 1964 ; SHARMA et coll. 1968). Les premières chaleurs visibles chez "Bos indicus" se manifestent vers 30 mois, parfois un peu plus tôt. Elles sont plus tardives que chez Bos taurus où elles se produisent souvent avant un an.

#### II - A - 2 - Durée du cycle oestral

La durée totale du cycle oestral de la femelle zébu est très variable. En règle générale, elle est sensiblement égale à celle de "Bos taurus", soit 20 à 23 jours avec une moyenne de 21 jours. Mais c'est une règle assez lâche car selon SHARMA et coll. (1968), cette durée va de 9,77 jours à 23,59 jours.

Les manifestations extérieures de l'oestrus sont en général très discrètes et difficilement observables chez la femelle zébu. Il se produit souvent la nuit et certains auteurs l'estiment même fréquemment invisible en raison de l'absence des signes externes (oestrus silent heat ou oestrus à chaleurs silencieuses).

Les auteurs anglo-saxons divisent la phase de l'oestrus visible en 3 périodes. Au cours de la première la femelle attire le mâle mais refuse le coït. Pendant la seconde elle accepte le mâle. Pendant la troisième période la femelle attire toujours le mâle mais refuse à nouveau la saillie.

Selon ROLLINSON (1955) la période totale d'attirance du mâle peut durer de 7,47 heures à 43,27 heures et celle d'acceptation du mâle de 12 minutes à 36 heures. Par rapport à Bos taurus dont l'oestrus dure de 18 à 20 heures, celui de Bos indicus se caractérise donc par sa durée variable, la fréquente brièveté de la période d'acceptation du mâle et la discrétion des signes extérieurs.

.../...



11 - A - 4 - La gestation

. Age de la première saillie féconde et du premier velage

Les premières chaleurs visibles ne sont généralement pas suivies de fécondation. Les chaleurs fertiles apparaissent plus tardivement, ainsi, pour le zébu Azawak au Niger, la première saillie féconde se situe vers 28 mois. (PAGOT 1943 et 1951-52). Les génisses de race Maure en zone sahélienne et en élevage traditionnel ne sont conduites au mâle que vers l'âge de 3 à 4 ans (DIAK , 1963). La première saillie féconde est donc beaucoup plus tardive chez Bos indicus que chez Bos taurus où le premier velage se produit souvent avant 3 ans après une gestation de 11 mois.

. Durée de la gestation

La gestation dure 285 à 288 jours chez la femelle zébu et les chiffres publiés pour cette femelle varient entre 283 et 297 jours ( )

. Intervalle entre deux velages

L'intervalle entre deux velages est constitué par la période allant de la mise-bas précédente à la fécondation et par la période de la gestation. Il est souvent très long chez la femelle zébu et généralement plus proche de 2 ans que d'un an.

Les durées de l'intervalle-velage publiées par différents auteurs sont très variables et vont de 387 à 420 jours voire 690 jours. Il est de 13 à 14 mois chez "Bos taurus".

. Le cycle annuel des fécondations

Le caractère saisonnier de la reproduction du zébu a été mis en évidence par CUQ, FERNEY et VAN CRAEYNEST (1974).

D'après leur étude faite au Sénégal le quart des fécondations de l'année s'effectue en septembre, plus de la moitié entre août et octobre et près des 2/3 entre août et novembre.

Chez les taurins malgré une extrême recrudescence au printemps et un ralentissement en hiver, la reproduction est possible toute l'année.

### II - B - Particularités structurales et fonctionnelles de l'ovaire de la femelle zébu

Les particularités structurales et fonctionnelles de l'ovaire de la femelle zébu ont fait l'objet de travaux qui se sont échelonnés depuis 1970 au Laboratoire d'Anatomie, Histologie et Embryologie de l'E.I.S.M.V. de DAKAR. Les résultats qui les concernent ont été publiés et communiqués successivement par : CUQ, FERNEY et coll. (1974), CUQ (1975), et CUQ et AGBA (1975).

L'ovaire de la femelle zébu est caractérisé par la croissance simultanée et constante de plusieurs follicules à la période pro-oestrus et la déhiscence d'un seul d'entre eux à l'oestrus, par l'existence d'une zone de recouvrement péritonéal, par la lenteur de la phase d'involution et de dégénérescence des corps jaunes cycliques, par le remplacement, la supplémentation ou la disparition complète des corps jaunes de gestation et par l'existence des périodes de repos sexuel. (Anoestrus)

#### II - B - 1 - Maturations pluri-folliculaires cycliques

Chez la femelle zébu, au pro-oestrus de chaque cycle, plusieurs follicules cavitaires petits ou moyens commencent l'évolution maturative.

Le plus souvent 4 ou 5 sont intéressés par le processus, mais de façon régulière un seul atteint la maturation et

.../...

la déhiscence. Les autres involuent plus ou moins précocement.

Ce phénomène explique l'extrême rareté de la gemellité chez le zébu.

#### 11 - B - 2 - La zone de recouvrement péritonéal

La zone de recouvrement péritonéal se caractérise par l'extension à la surface de l'ovaire de l'épithélium péritonéal du mésovarium qui refoule et réduit l'étendue de l'épithélium superficiel de la gonade. Sous la lame séreuse, le stroma ovarien se condense, devient fibreux, est envahi par les vaisseaux ovariens et se transforme peu à peu en une "lame conjonctive sous séreuse" qui s'oppose à la déhiscence folliculaire.

Le phénomène n'est pas particulier à la femelle zébu. Chez la femme, l'épithélium superficiel n'occupe que le tiers de la surface de l'ovaire et chez le jument, seule persiste une zone épithéliale réduite, localisée au niveau de la "fosse d'ovulation". Chez *Bos indicus*, la zone de recouvrement péritonéal est d'étendue variable. Le plus souvent, elle intéresse la face médiale de la gonade ; mais elle peut aussi déborder largement sur son bord libre, envahir le pôle tubaire et une partie de la face latérale.

Lorsqu'à la phase oestrogénique du cycle, le follicule en voie de maturation vient buter contre l'obstacle que représente la lame conjonctive sous séreuse, il involue. Deux phénomènes peuvent alors se produire. Lorsque les follicules qui l'accompagnent ont déjà entamé leur involution, un "oestrus anovulatoire" se produit ou un anoestrus commence selon le niveau de l'activité oestrogénique de l'ovaire.

Si au contraire les autres follicules en voie de maturation n'ont pas perdu leurs capacités évolutives, l'un d'entre eux poursuit son évolution maturative et migre vers la surface qu'il peut atteindre dans la zone épithéliale en entraînant i

.../...

l'apparition d'un oestrus vrai mais tardif, ou dans la zone de recouvrement péritonéal où son involution provoque en chaîne les phénomènes cités plus haut.

L'association de la maturation plurifolliculaire et de la zone de recouvrement péritonéal, explique donc l'existence d'oestrus anovulatoire, d'oestrus prolongé, d'irrégularité du cycle et d'anoestrus chez la femelle zébu.

#### II - B - 3 - Période d'involution des corps jaunes cycliques

Alors que chez les taurins le corps jaune du cycle précédent présente toujours de nets signes d'involution au pro-oestrus du cycle suivant, celui du zébu est caractérisé par la longueur de la phase d'état et la lenteur de son involution. Histologiquement cette dernière ne débute jamais nettement avant la deuxième moitié de la phase progestative du cycle suivant et n'est même le plus souvent caractéristique qu'au cours de son di-oestrus.

Ces deux caractères spécifiques du corps jaune cyclique du zébu, associés à l'action conjointe du milieu et des facteurs génétiques, pourraient expliquer la durée anormalement grande des cycles oestriques observée sur certaines populations.

#### II - B - 4 - Particularités des corps jaunes de gestation

Chez les taurins, le corps gestatif de fécondation a une phase d'état qui se prolonge pendant toute la durée de la gestation.

Chez le zébu, il disparaît dans 50 pour cent des cas, à partir du 4ème mois. Il peut alors être remplacé grâce à une

poussée maturative d'un lot de follicules cavitaires petits ou moyens. Ce processus identifié histologiquement est confirmé par l'existence des signes extérieurs de chaleurs sur des femelles zébus gestantes. Ce corps jaune de gestation de 2ème génération peut persister jusqu'à la mise bas ou régresser à son tour et être remplacé par un corps gestatif de 3ème, voire de 4ème génération.

Parfois le corps gestatif de fécondation involue partiellement mais ne disparaît pas. Il est alors souvent supplé-  
menté par des follicules cavitaires moyens dont les cellules thé-  
cales et celles de la granulosa subissent la transformation glan-  
dulaire "in situ", pour former un corps gestatif profond cons-  
titué d'un îlot de lutéocytes granuleux central entouré d'une  
couronne de lutéocytes thécaux.

Lorsqu'il disparaît, le corps gestatif de fécondation  
peut enfin n'être ni remplacé, ni supplé-  
menté. Sa gestation s'a-  
chève alors sans corps jaunes, sans doute grâce à l'action  
d'hormones d'origine placentaire.

#### II - B - 5 - Les périodes de repos sexuel ou anoestrus

En dehors de la gestation, la succession régulière  
des cycles est souvent interrompue chez la femelle zébu par des  
périodes de repos (anoestrus) de durée variable.

Histologiquement, ces anoestrus se traduisent par des  
ovaires dépourvus de tout organite pouvant être rapporté à un  
cycle en cours.

La durée de cet anoestrus peut être alors évaluée par  
le degré de dégénérescence du dernier corps progestatif. CUQ,  
FERNEY et coll. (1975) ont ainsi mis en évidence quatre types  
d'anoestrus.

. Des anoestrus longs, caractérisés par la disparition complète des corps progestatifs. Ceux-ci persistent sous la forme de corps blancs pendant quatre cycles consécutifs de 20 à 22 jours, c'est-à-dire près de trois mois, les anoestrus de ce type ont au moins cette durée.

. Des anoestrus de durée moyenne dans lesquels le dernier corps gestatif est en état de dégénérescence avancée.

Par comparaison avec l'évolution des corps gestatifs des femelles à cycles réguliers la durée de ces périodes de repos peut être évaluée à 3 cycles c'est-à-dire deux mois environ.

. Des anoestrus courts dans lesquels le plus récent corps gestatif montre des signes de dégénérescence qui fixent son origine à la durée de deux cycles. L'anoestrus correspondant date de 6 semaines environ.

. Des anoestrus récents dans lesquels le corps jaune n'a pas encore subi la dégénérescence hyaline. Ils correspondent au moment de l'examen à des périodes de repos d'une durée de 5 semaines environ par disparition du dernier oestrus.

Histologiquement encore, les ovaires des femelles en anoestrus se présentent sous deux aspects qui correspondent à deux mécanismes différents d'apparition.

..

+ Dans le premier cas, les ovaires sont caractérisés par la disparition complète des follicules en croissance alors que la transformation périodique des follicules pleins en petits follicules cavitaires persiste et que l'involution de ces derniers ne s'accompagne pas d'activité oestrogénique de la thèque.

+ Dans le deuxième cas, les ovaires sont au contraire caractérisés par une intense activité folliculaire. Leur stroma est garni de follicules cavitaires moyens et grands qui tous dégènèrent sous des formes oestrogéniquement actives.

Dans l'ensemble les périodes d'anoestrus sont assez fréquentes chez la femelle zébu. L'enquête du laboratoire d'Anatomie, Histologie et Embryologie de l'E.I.S.M.V. de DAKAR a montré que, près de la moitié des femelles zébus non gestantes en était atteinte. L'étude de la répartition saisonnière de ces périodes de repos montre qu'elles sont plus fréquentes en saison sèche qu'en saison des pluies.

La vie génitale de la femelle zébu présente donc des différences importantes par rapport à celle des taurins. Ces particularités doivent être connues pour analyser les données fournies par les méthodes de détection des phases du cycle oestral de cette espèce.

C'est ce que nous avons essayé de faire et rapportons en 3 parties, matériel et méthodes, résultats et discussion, à propos des frotfis vaginaux.

## CHAPITRE DEUXIEME

### MATERIEL ET METHODES

Le matériel et les méthodes employés pour le diagnostic hormonal par frottis vaginaux chez "Bos taurus" ont été adaptés aux particularités de "Bos indicus".

#### I - LES ANIMAUX

Les prélèvements ont été effectués sur trois catégories d'animaux : animaux de l'abattoir de DAKAR, animaux de dissection du service d'anatomie et une génisse d'expérience.

A l'abattoir, pendant les années universitaires 1974-1975 à 1976-1977 incluse et pendant les grandes vacances 1976, 64 zébus ont été utilisés.

Le lot d'animaux de dissection représente 15 femelles.

La génisse d'expérience a été étudiée au cours de l'année universitaire 1976-1977, du 21 décembre au 30 avril.

Tous ces zébus étaient de race Gobra (ou Peulh sénégalais) et de race Maure ou métisses issus du croisement des 2 races.

#### II - METHODES DE PRELEVEMENT ET DE PREPARATION DES FROTTIS ET DU MATERIEL DE CONTROLE

Les prélèvements ont varié suivant les catégories d'animaux. Pour ceux de l'abattoir et des travaux pratiques, l'exécution des frottis était systématiquement complétée par les

.../...



prélèvements des ovaires et de la muqueuse vaginale aux fins de contrôle. Pour la génisse d'expérience, seuls les frottis ont été élaborés. Le contrôle de l'état génital de l'animal n'a été que clinique.

## II - A° - Les méthodes de prélèvement

Les méthodes de prélèvement ont aussi varié selon que ces prélèvements étaient destinés à l'élaboration des frottis vaginaux, à l'urocytogramme ou aux examens de contrôle des ovaires et de la muqueuse vaginale.

### II - A - 1° - Pour les frottis vaginaux

Pour les frottis vaginaux le prélèvement a consisté à récolter le mucus de surface de l'épithélium vaginal et à le déposer sur des lames. Il se pratique dans le fond du fornix dorsal ; toujours au même endroit pour éviter les erreurs de structure locale de l'épithélium. Nous avons successivement utilisé pour effectuer ce prélèvement, une lame de matière plastique montée à l'extrémité d'une pince à force pressure, un abaisse langue puis un écouvillon de coton cardé. Cette dernière technique a été finalement retenue. Elle évite les traumatismes de la muqueuse. Le coton hydrophile est à éliminer en raison des fibres qu'il dépose sur les frottis.

de l'urine est réalisée sur les animaux de l'abattoir.

Le frottis est réalisé à l'aide d'une lame propre et sèche sur les frottis.

A l'abattoir les prélèvements ont été réalisés immédiatement après la saignée des animaux.

Après sa récolte, le prélèvement est déposé sur des lames propres bien dégraissées et marquées à l'avance, par pressions successives afin d'éviter la détérioration des cellules.

Les frottis encore humides sont immédiatement plongés dans un liquide fixateur variable selon la technique de coloration.

#### II - A - 2° - Pour l'urocytogramme

Pour l'urocytogramme les méthodes de prélèvement des urines diffèrent selon qu'elles s'effectuent sur les animaux de l'abattoir ou "in vivo".

Sur les animaux de l'abattoir toujours immédiatement après la saignée et l'ouverture de la carcasse, la vessie est incisée légèrement à l'aide d'une lame de scalpel et l'urine est recueillie dans un flacon sec et propre.

Sur les animaux de dissection et sur la génisse d'expérience, les échantillons d'urine ont été prélevés à la sonde vésicale métallique et courbe avec les précautions d'usage pour effacer la valvule sous uréthrale.

Le prélèvement par cathétérisme vésical sur la génisse d'expérience, était parfois difficile voire impossible en raison de l'agressivité de l'animal. Nous avons dans certains cas pu recueillir l'urine lors de la miction physiologique normale.

.../...

Les urines recueillies sont alors mises en glacière portative, transportées au laboratoire et centrifugées dans les plus brefs délais.

II - A - 3° - Pour le matériel de contrôle

Pour le matériel de contrôle, les prélèvements se pratiquent aussi immédiatement après abattage. Ils intéressent les ovaires et la muqueuse vaginale.

II - A - 3 - a - Pour le contrôle de l'état des ovaires

Lorsque les ovaires ont été prélevés, ils sont examinés macroscopiquement et leurs particularités de forme, de consistance sont notées ainsi que la présence d'organites superficiels. Ils sont ensuite plongés dans le liquide fixateur de Bouin et y séjournent pendant une semaine.

Au moment de l'abattage, l'état sanitaire de l'appareil génital ainsi que son état de vacuité ou de gestation sont notés.

II - A - 3 - b - Pour le contrôle de la muqueuse vaginale

Pour le contrôle de la muqueuse vaginale, un prélèvement est pratiqué dans le fornix, lieu d'élection de frottis et un autre dans la moitié caudale du vagin (portion lisse) pour étude comparative.

Les prélèvements sont fixés au liquide de Bouin.

## II - B - Méthodes de préparation et d'examens

Les méthodes de préparation et d'examens ont différencié selon qu'elles portaient sur les ovaires aux fins de contrôle de la période du cycle, sur la muqueuse vaginale pour une étude structurale, sur les frottis ou sur l'urine pour le diagnostic proprement dit.

### II - B - 1 - Préparation et examens des ovaires

Pour les animaux d'abattoir et ceux de dissection, les coupes d'ovaires correspondant à chaque frottis ont été incluses au paraplast puis débitées au microtome Minot en coupes de 7 à 8 microns d'épaisseur. Les plus caractéristiques de ces coupes ont été ensuite colorées par l'une au moins des méthodes topographiques suivantes : Trichrome de Masson, Trichrome de Ramon y Cajal et Hémalum-éosine-orange G -

Elles ont été examinées au microscope Leitz Orthoplan.

### II - B - 2 - Préparation et étude de la muqueuse vaginale

Les prélèvements de fragments de muqueuse vaginale des deux portions lisse et plissée du vagin, après fixation au liquide de Bouin, et après inclusion au paraplast, ont été également débités en coupes de 7 à 8 microns au microtome puis colorés par les mêmes méthodes topographiques que les ovaires :

Trichrome de Masson, Trichrome de Ramon y Cajal et Hémalum-éosine-orange G.

.../...

Les examens ont été faits au microscope Lertz orthoplan.

II - B - 3 - Préparation et étude des frottis vaginaux

L'étude des frottis vaginaux a comporté : l'examen de la cytologie vaginale selon les procédés classiques du diagnostic hormonal par affinités tinctoriales, la recherche des leucocytes et les détections histochimiques des lipides intra-cellulaires.

II - B - 3 - a - Pour la cytologie vaginale par affinités tinctoriales

Pour la cytologie vaginale par affinités tinctoriales, les lames ont été fixées à l'alcool-éther (aa) puis colorées par la méthode de ISAAC-WURCH, à base d'hématoxyline, d'écarlate de Biebrich, d'orange G et de vert sulfo.

Pour chaque frottis l'examen a été fait au microscope Lertz orthoplan, les types cellulaires ont été identifiés et dénombrés sur toute l'étendue de la lame car les différents champs observés sur un même frottis peuvent donner des résultats différents.

II - B - 3 - b - Pour la recherche des leucocytes

Les leucocytes ont été recherchés au microscope après coloration des frottis par la méthode panoptique de May Grunwald-Giemsa.

II - B - 3 - c - Pour les colorations histo-  
chimiques

Les colorations histochimiques ont visé la mise en évidence du glycogène, des mucosubstances et des lipides.

Le glycogène a été recherché par l'A.P.S. en solution aqueuse et en solution alcoolique après fixation au liquide de Carnoy réfrigéré ou par la méthode de la gomme iodée après fixation au liquide de Gendre.

Les mucosubstances ont été recherchées sur des frottis fixés au liquide de Carnoy à 0°C et colorés au Bleu alcian et au Bleu alcian-Permanganate.

Les lipides ont donné lieu aux recherches les plus nombreuses en raison des mauvais résultats obtenus avec les autres méthodes histochimiques. Après fixation pendant 24 heures au formol-calcium de BAKER, les méthodes suivantes ont été utilisées : Bleu BZL et Bleu BZL - Pyridine, sulfate de Bleu de Nil à 1 pour cent et à 0,02 pour cent, Oil Red O selon la technique d'Herxheimer et Noir Soudan B.

Sur cet ensemble d'examens histochimiques, seuls les détecteurs des lipides intracytoplasmiques ont donné des résultats positifs que nous rapporterons au chapitre suivant.

II - B - 4 : L'urocytogramme

La "similitude histologique et vraisemblablement embryologique des épithélia vaginal et trigonal, permet d'expliquer la sensibilité hormonale de ce dernier".

.../...

(CAVA et MAILLET, 1974). Elle justifie les essais de diagnostic hormonal à partir d'urocytogramme.

La centrifugation des urines doit être effectuée le plus rapidement possible après le prélèvement.

Après plusieurs essais nous avons adopté la technique de centrifugation suivante : 10 minutes à 6.000 tours par minute, avec une centrifugeuse G.81 JOUAN.

Le culot d'urine se présente habituellement sous la forme d'un dépôt peu épais sur le fond et les parties avoisinantes de la paroi du tube à centrifugation.

Après décantation, le culot est prélevé à l'aide d'un écouvillon de coton cardé et déposé par pressions successives sur des lames également propres, dégraissées et marquées à l'avance. Il faut laisser sécher la préparation à l'air avant de la plonger dans le liquide fixateur pour que les cellules restent sur la lame.

L'étalement fixé au mélange alcool-éther (aa) pendant 30 minutes, est coloré par l'Oil Red O selon la méthode d'Erseheimer pour la recherche des lipides. Cette méthode a été retenue parce que le lysochrome oil Red O est de loin meilleur que le Bleu de Ziehl et au Sulfate de Bleu de Nil voire au Noir soudan B.

Les photographies ont été prises au microscope Leitz orthoplan couplé avec un appareil Polaroid pour les études courantes et avec un appareil orthomat pour les diapositives à projeter ou les clichés à publier.

## CHAPITRE III

### RÉSULTATS

Nous rapporterons successivement les résultats que nous ont fournis l'étude histologique préalable de la muqueuse vaginale, les colorations des frottis par les méthodes habituelles du diagnostic hormonal, les colorations des frottis par les méthodes histochimiques de détection des lipides et l'urocytogramme.

#### I - HISTOLOGIE DE LA MUQUEUSE VAGINALE

L'épithélium vaginal de la femelle zébu est stratifié, pavimenteux et non corné.

##### (Epithélium stratificatum non cornescens)

Les cellules qui le composent sont disposées en trois couches.

La couche basale (stratum basale) est formée de petites cellules (15 environ) à noyau volumineux et à cytoplasme rare que l'on peut distinguer en deux catégories : des cellules profondes arrondies (type basal interne) et appliquées contre la vitrée, qui forment la couche générative de l'épithélium et des cellules ovoïdes, à peine plus grandes que les précédentes (type basal externe ou parabasal).

La couche intermédiaire (stratum intermedium) est formée de cellules à cytoplasme plus abondant, donc plus volumineuses que les précédentes. Les plus profondes sont trapues et globuleuses (cellules intermédiaires profondes).

.../...



fondes). Les autres sont ovoïdes (cellules intermédiaires superficielles) et font transition avec la couche superficielle.

La couche superficielle (stratum superficialis) est constituée de trois types de cellules qui se répartissent de façon différente dans la portion plissée et la portion lisse du vagin.

Dans la portion crâniale, plissée du vagin, la plus grande partie de l'épithélium est formée de deux couches cellulaires. Des cellules aplaties mais pourvues de noyaux pycnotiques ou non et à cytoplasme plus ou moins vacuolaire puis des cellules desquamantes en minces plaques, anucléées, qui se kératinisent pendant certaines périodes du cycle. Dans les dépressions qui séparent les bourrelets de la portion plissée du vagin la couche superficielle de l'épithélium présente en outre des cellules à mucus isolées ou réunies en plages de dimensions réduites.

Dans la portion caudale, lisse du vagin, la couche superficielle de l'épithélium est pauvre en cellules aplaties et totalement dépourvues de cellules en voie de kératinisation. Elle est par contre très riche en cellules à mucus qui se regroupent souvent dans des invaginations plus ou moins ramifiées et enfractueuses et lui donnent par place un aspect glandiforme.

Le traitement des coupes par la gomme iodée montre que l'épithélium vaginal du zébu est toujours très pauvre en glycogène. Le Bleu BZL avec et sans traitement préalable à la pyridine, montre que les cellules de la couche superficielle et certaines cellules desquamantes se chargent périodiquement de lipides que la coloration au sulfate de Bleu Nil permet de classer dans les lipides acides. Enfin, les tests conjugués du Bleu alcian, du Bleu alcian-permanganate, de l'A.P.S. en solution aqueuse et alcoolique et

.../...

du sulfate de bleu Nil, montrent que les cellules à mucus renferment des mucopolysaccharides acides dont certains au moins sont sulfatés.

Au cours du cycle oestral, la muqueuse vaginale subit des modifications plus nettes dans la portion plissée que dans la portion lisse.

Pendant la phase oestrogénique du cycle, les cellules à mucus augmentent en nombre et se chargent de polysaccharides. Les cellules de la couche basale se multiplient activement et l'épithélium augmente d'épaisseur. Les cellules superficielles se kératinisent et desquament.

Pendant la phase progestative les cellules desquament, l'épithélium s'amincit. Il est parfois réduit à sa seule couche basale à la fin de cette phase.

## II - DIAGNOSTIC HORMONAL DE LA PHASE DU CYCLE PAR FROTTIS VAGINAUX COLORES PAR LES METHODES CLASSIQUES

Nous avons successivement utilisé la méthode de CLEVELAND-WOLFE et celle de ISAAC-WURCH que nous avons finalement adoptée en raison du plus grand nombre des types cellulaires qu'elle permet d'identifier chez le zébu.

Nous rapporterons successivement les types cellulaires identifiés par cette méthode et leurs variations au cours des divers états physiologiques

### II - A° - Types cellulaires identifiés

La méthode d'ISAAC-WURCH nous a permis de mettre en évidence 9 types cellulaires sur les frottis vaginaux de la femelle zébu.

.../...

- De la couche basale nous n'avons rencontré que le type basal externe ou parabasal ( $C_2$  dans la nomenclature de DALION ( 19 ) qui réserve  $C_1$  à la couche basale interne. Ce type cellulaire est toujours basophile ( $C_2B$ ), son cytoplasme est teinté en vert. Il correspond au type I de HANSEL, ASDEL et ROBERTS et de PREVOST et aux cellules 1 décrites par THIERY.

- De la couche intermédiaire deux types morphologiques peuvent être facilement distingués chez le zébu alors qu'un seul est décrit chez les taurins. Ils correspondent à des cellules plus grandes (18-33 $\mu$ ) et à cytoplasme plus abondant que dans le type  $C_2$ . Le premier est formé de cellules massives, globuleuses ou légèrement ovoïdes (18-25 $\mu$ ) (cellules intermédiaires profondes) ; les autres plus aplaties d'un côté à l'autre sont plus nettement ovalaires (22-32 $\mu$ ) (cellules intermédiaires superficielles. Selon le code de DALION) nous les désignerons respectivement par  $C_3$  et  $C_4$ . Elles se présentent sous 2 aspects tinctoriaux : basophile et acidophile ( $C_3B$  et  $C_3A$  ;  $C_4B$  et  $C_4A$ ). A l'affinité tinctoriale près ces 2 types cellulaires correspondent au type II de HANSEL, ASDEL et ROBERTS et de PREVOST, aux cellules 2 de THIERY et aux cellules basophiles de MAZAN.

- De la couche superficielle deux types morphologiques ont aussi été observés. Le premier correspond à des cellules plates, polygonales, à contours nets et toujours pourvus de noyau qui peut être en début de pycnose. Avec DALION nous les désignons par  $C_5$  et les distinguons selon qu'elles sont acidophiles ou basophiles en  $C_5A$  et  $C_5B$ . Le deuxième type morphologique comprend des cellules plates et polygonales comme les précédentes (20-30 $\mu$ ), mais dépourvues de noyau ou à noyau très fortement pycnotique. Nous les désignons par  $C_6$ . Elles se présentent aussi sous deux aspects tinctoriaux. Le type  $C_6$  basophile a les contours cellulaires généralement flous, lorsqu'ils sont nets, ils

.../...

sont souvent plicaturés. Le type C<sub>6</sub> acidophile est totalement dépourvu de noyau en général. Son cytoplasme est souvent kératinisé et ses bords généralement nets sont fréquemment plicaturés.

Le type C<sub>5</sub> basophile (C<sub>5</sub>B) correspond au type III de PREVOST, aux cellules 3 de THIERY et au type IV de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

Le type C<sub>5</sub> acidophile (C<sub>5</sub>A) correspond aux "cellules acidophiles nucléées" décrites par PREVOST et par MAZAN, aux cellules 4 de THIERY et au type III de HANSEL, ASDEL et ROBERTS.

Le type C<sub>6</sub> basophile (C<sub>6</sub>B) n'a été identifié que par HANSEL et coll. qui le nomment type V et par PREVOST qui l'appelle type IV.

Le type C<sub>6</sub> acidophile (C<sub>6</sub>A) correspond au type III de HANSEL, ASDEL et ROBERTS, aux cellules 5 de THIERY et aux cellules acidophiles kératinisées de MAZAN et de PREVOST.

Dans la nomenclature de DALION consacrée à la femme, le type C<sub>6</sub> n'est pas distingué de C<sub>5</sub>.

Nous avons été amenés à subdiviser ce groupe pour tenir compte de particularités morphologiques qui semblent propres aux zébus.

Nous n'avons rencontré qu'exceptionnellement des cellules extra-vaginales sur les frottis : cellules cervicales, cellules endométriales et cellules sanguines. Cette particularité est probablement la conséquence de l'utilisation de coton cardé peu traumatique et du lieu d'élection choisi, au plafond d'un fornix profond.

.../...

Les cellules cervicales sont des cellules cylindriques pour la plupart. Certaines sont arrondies ou ovales. Elles sont parfois disposées en placards. Leur noyau est refoulé vers une extrémité par des vacuoles intra-cytoplasmiques.

Les cellules endométriales sur les frottis sont de petites cellules arrondies, à cytoplasme basophile et à noyau souvent excentrique et ovalaire. Elles peuvent aussi être observées en placards.

Les leucocytes, avec la coloration de ISAAC et WURCH, sont des cellules à cytoplasme vert pâle, à noyau polymorphe suivant le type et coloré en violet noir. Leur présence est considérée comme un critère important de diagnostic hormonal du cycle chez la femme, les rongeurs et les taurins. Chez le zébu, ils sont normalement rares et leurs variations quantitatives peu importantes. Dans cette espèce l'interférence de facteurs pathologiques locaux est aussi importante si bien que nous n'avons pas pu les adopter comme critère de diagnostic.

Outre les leucocytes, des érythrocytes ont été observés sur les frottis vaginaux. Ils sont aussi très rares. Leur cytoplasme est coloré en rouge orangé quand ils sont frais et en rouge pâle quand ils sont altérés.

#### II - B - Variations des types cellulaires

Les variations cytologiques des frottis vaginaux ont été étudiés selon deux méthodes : une série de prélèvements correspondant à des animaux différents et une série de prélèvements effectués sur le même sujet.

II - B - 1 - Etude générale des variations

Les tableaux n° III à X donnent les résultats des frottis vaginaux que nous avons examinés après coloration par la méthode d'ISAAC et WURCH. (73 femelles zébus). Ils se rapportent aux différentes phases du cycle : oestrus (tableau III), post-oestrus (tableau IV), di-oestrus (tableau V), pro-oestrus (tableau VI), ) l'anoestrus (tableaux VII et VIII), à la gestation (tableau IX) et à la période prépubérale (tableau X). La colonne 1 indique le numéro du prélèvement, la colonne 2 le nombre des cellules comptées. Il comprend dans tous les cas la totalité des cellules de la lame à l'exception de celles qui sont comprises dans des plaques desquamantes dont la présence est indiquée d'autre part. Les colonnes 3 à 7 indiquent en pourcentages les fréquences de chacun des types cellulaires acidophiles rencontrés.

La colonne 8 indique le pourcentage de l'ensemble des cellules acidophiles du frottis. De même, les colonnes 9 à 13 indiquent la fréquence de chaque catégorie basophile et la colonne 14 celle de l'ensemble des cellules basophiles.

La période du cycle oestral ou l'état génital correspondant à chaque frottis ont été déterminés par examen systématique du tractus génital et l'étude macroscopique et microscopique des ovaires, ou, pour la génisse d'expérience, par regroupement des diverses observations cliniques et de laboratoire.

II - B - 1 a. - Oestrus

A l'oestrus (2 observations), le taux des cellules acidophiles est très élevé (95 et 97 pour cent). Leur majorité sont des cellules superficielles non kératinisées (C<sub>5</sub>A) dont les fréquences sont 47 et 52 pour cent. Les

.../...

Tableau n° III Coloration ISAAC-WURCH OLSTRUS (2 observations)

N° de prot.	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub> kérat.	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total
81/1	345	0	1,5	0,5	52,0	43,0	97,0	Plages	3	1	0	1	3,0
98/1	503	0	0	33,5	47,0	14,5	95,0	0,5	0,5	2,0	0,5	1,5	5,0
Total	848	0	1,5	34,0	99,0	57,5	192,0	0,5	3,5	2,0	0,5	1,5	8,0
Moienne		0	0,5	17	50	28,5	96	0,25	1,5	1	0,25	1	4

Tableau n° IV Coloration ISAAC-WURCH POST-OESTRUS (14 observations)

Numéro du frot- tis	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub> kórat.	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total
76/1	255	0	0	0,5	54,0	45,5	99,0	0	0	0	0	1	1
80/1	208	0	0	0,5	65,0	33,0	98,5	0	0	0	1,0	0,5	1,5
71/1	336	0	0	0	59,5	34,0	93,5	Plages	2,0	0,5	2,0	2,0	6,5
66/1	210	0	0	0	70,5	22,0	92,5	Plages	0	1,0	1,0	5,5	7,5
82/1	336	0	0	0,5	44,5	45,5	90,5	0	6,0	1,0	1,0	1,5	9,5
62/1	222	0	0	5,5	44,5	29,0	80,0	3,5	6,5	2,5	5,5	2,0	20,0
A 111/1	566	0	0	8,0	30,5	26,5	65,0	0	14,5	11,5	4,5	4,5	35,0
A 101/1	264	0	0	16,5	33,5	14,5	64,0	0,5	0	5,5	14,5	15,0	35,5
A 117/1	211	0	0	0,5	39,0	12,0	51,5	6,5	22,0	11,0	7,0	2,0	48,5
A 102/1	346	0	0	4,5	33,5	10,0	48,0	3,5	12,5	19,5	10	7,0	52,0
A 100/1	289	0	0	4,0	35,0	6,0	45,0	5,0	23,0	20,0	4,0	3,0	55,0
70/1	324	0	0	0	25,5	18,0	43,5	Plages	41,0	15,0	0,5	0	56,5
A 99/1	231	0	0	4,5	20,0	9,5	34,0	0	9,5	29,0	18,0	9,5	66,0
A 112/1	350	0	0	0,5	24,0	4,5	29,0	4,5	32,5	23,0	6,0	5,0	71,0
Total		0	0	45,5	520,0	309,0	934,0	23,0	170,5	139,5	75,0	58,5	465,5
Moyenne				3,25	41,5	22,0	66,75	1,5	12,25	10	5,5	4	53,2



Tableau n° V Coloration IGAAD-WURCH DI-OESTRUS (14 observations)

Numéro du trot- toir	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub> 3	Type C <sub>3</sub> 4	Type C <sub>4</sub> 5	Type C <sub>5</sub> 6	Type C <sub>6</sub> kérat. 7	Total 8	Type C <sub>2</sub> 9	Type C <sub>3</sub> 10	Type C <sub>4</sub> 11	Type C <sub>5</sub> 12	Type C <sub>6</sub> 13	Total 14
A 105/1	276	0	0	5,0	53,0	3,0	61,0	4,0	13,0	15,0	6,0	1,0	39,0
64/2	464	0	0	0,5	43,0	13,5	57,0	1,0	11,5	24,5	4,5	1,5	43,0
74/1	694	0	0	0,5	43,0	10,5	54,0	0	29,0	14,0	1,0	1,5	46,0
A 106/1	196	0	0	2,0	48,0	3,0	53,0	4,0	9,5	22,5	6,0	5,0	47,0
A 114/1	280	0	0	4,5	40,5	3,5	48,5	2,0	13,0	23,0	11,5	2,5	51,5
59/1	146	0	0	19,0	22,0	7,0	48,0	4,0	22,0	18,0	5,5	2,5	52,0
A 103/1	256	0	0	3,0	34,5	5,5	43,0	0	36,0	15,5	4,0	1,5	57,0
A 107/1	264	0	0	5,5	30,5	5,0	41,0	2,5	15,5	21,5	15,5	4,0	59,0
A 115/1	320	0	0	2,5	24,5	4,5	31,5	0	13,5	45,0	7,0	3,0	68,5
A 104/1	253	0	0	0	29,5	1,5	31,0	3,5	24,0	32,0	5,5	3,5	69,0
55/1	368	0	0,5	0,5	20,0	5,5	26,5	Plages	26,0	46,0	0,5	1,0	73,5
A 108	346	0	0	1,5	16,0	3,5	21,0	4,0	38,0	25,5	4,0	7,5	79,0
A 113/1	379	0	0	0,5	6,5	4,0	11,0	1,5	41,0	38,5	5,0	3,0	89,0
A 112/1	218	0	0	0,5	6,0	1,0	7,5	4,5	51,5	23,5	10,0	3,0	92,5
Total		0	0,5	45,5	417,0	71,0	534,0	31,0	344,0	365,0	86,0	40,0	866,0
Moyenne		0		3	30	5	38	2	25	26	6	3	62

Tableau n° VI Coloration ISAAC-WURCH PRO-OESTRUS (13 observations)

Numéro de frot- tis	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
85/1	299	0	0	0	61,5	38,0	99,5	0	0	0	0	0,5	0,5
63/1	263	0	0	3,5	60,0	35,0	98,5	0	0,75	0,75	0	0	1,5
61/1	272	0	0	6,5	65,0	22,5	94,0	0,1	2,5	0	2	1,0	6,0
67/1	352	0	0	0	63,5	25,5	89,0	0	1,0	1,0	0	9,0	11,0
A 116/1	255	0	0	12,5	48,0	27,5	88,0	1,0	2,5	1,5	2,5	4,5	12,0
69/1	228	0	0	1,5	66,0	16,5	84,0	3+ PI.	9,5	2,5	0	1	16
78/1	354	0	0	0	32,0	47,0	79,0	0,5+ PI.	14,5	3,0	1,5	1,5	21,0
56/1	164	0	0	1,0	53,5	21,0	75,5	0	18,5	2,5	2,5	1,0	24,5
A 97/1	380	0	0	8,5	58,25	8,25	75,0	0	1,0	13,0	11	0	25,0
A 109/1	303	0	0	9,0	48,0	18,0	75,0	2,0	3,5	9,0	7,5	3,0	25,0
49/1	202	0	0	9,0	47,0	18,0	74,0	8,0	12,0	4,0	2,0	0	26,0
A 110/1	306	0	0	13,0	40,0	21,0	74,0	2,0	6,5	10,5	5,0	2,0	26,0
68/1	284	0	0	0	59,0	13,0	72,0	0	11,5	5,0	6,5	5,0	28,0
Total		0	0	64,5	701,75	311,25	1087,5	17,0	83,75	52,75	40,5	28,5	222,5
Moyenne				5	54	24	83	1,5	6,5	4	3	2	17

Tableau n° VII Coloration ISAAC-WURCH ou nulle (9 observations)

Numéro de frot- tis	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub> 3	Type C <sub>3</sub> 4	Type C <sub>4</sub> 5	Type C <sub>5</sub> 6	Type C <sub>6</sub> kérat. 7	Total 8	Type C <sub>2</sub> 9	Type C <sub>3</sub> 10	Type C <sub>4</sub> 11	Type C <sub>5</sub> 12	Type C <sub>6</sub> 13	Total 14
A 131/1	360	0	0	9,5	39,5	16,5	65,5	5,0	17,25	7,25	3,0	2,0	34,5
48/1	272	0	0	0,5	46,5	17,5	64,5	23,0	10,75	0,75	0,5	0,5	35,5
A 130/1	201	0	0	5,5	48,0	10,5	64,0	5,5+ PI	18,0	8,5	4,0	2,0	36,0
A 1	267	0	0	1,5	44,0	17,0	62,5	2,0	17,0	9,0	6,5	3,0	37,5
A 126/1	330	0	0	2,5	48,5	10,5	61,5	3,5	15,5	11,0	5,5	3,0	38,5
53/1	373	0	0	1,5	44,5	13,0	59,0	15,5+PI	13+PI	9,0	3,0	0,5	41,0
A 128/2	224	0	0	9,0	34,0	10,0	53,0	6,0	15,5	18,0	5,0	2,5	47,0
A 127/1	237	0	0	8,0	30,5	13,5	52,0	4,5	17,5	13,5	7,5	5,0	48,0
A 129/1	260	0	0	7,0	34,5	9,0	50,5	7,0	11,0	16,0	12,0	3,5	49,5
Total		0	0	45,0	370,0	117,5	532,5	70,0	135,5	92,5	47,0	22,0	367,5
Moyenne				5	41	13	59	8	15	10,5	5	2,5	41

Numéro du trot- tois	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub> 3	Type C <sub>3</sub> 4	Type C <sub>4</sub> 5	Type C <sub>5</sub> 6	Type C <sub>6</sub> kórat. 7	Total 8	Type C <sub>2</sub> 9	Type C <sub>3</sub> 10	Type C <sub>4</sub> 11	Type C <sub>5</sub> 12	Type C <sub>6</sub> 13	Total 14
77/1	176	0	0	3,5	50,0	43,0	96,5	0	1,0	0	0	2,5	3,5
75/1	250	0	0	1,0	57,0	33,5	91,5	0	7,5	1,0	0	0	8,5
57/1	250	0	0	5,5	63,0	21,0	89,5	0	1,5	5,5	3,5	0	10,5
46/1	286	0	0	3,5	43,5	38,0	85,0	0	9,5	3,5	1,5	0,5	15,0
Total		0	0	13,5	213,5	135,5	362,5	0	19,5	10,0	5,0	3,0	37,5
Moyenne		0	0	3	53,5	34	90,5	0	5	2,5	1	1	9,5
Total Général		0	0	58,5	583,5	253	895,0	70,0	155,0	102,5	52,0	52,0	405,0
Moyenne Générale		0	0	4,5	45	19,5	69	5	12	8	4	2	31

Tableau n° IX Coloration ISAAC-WURDH

GESTATION (9 observations)

Numéro du frot- tis	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub> kérat.	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
54/1	59	0	0	2	86	12	100	0	0	0	0	0	0
65/1	56	0	0	5	84	11	100	0	0	0	0	0	0
50/1	386	0	1	4	77	14	96	1	2,5	0	0,5	0	4
72/1	248	0	0	3	64	27	94	0	4	0	0	2	6
45/1	176	0	1	5	65	24	95	1	1	2	1	0	5
83/1	393	0	0	1	56	38	95	0	2	2	0	1	5
47/1	373	0	0	8	63	22	93	0	3	2	2	0	7
84/1	376	0	0	0	52	57	89	0	8,5	0,5	1	1	11
52/1	194	0	0	2	69	10	81	4	6	1	4	3	19
Total		0	2	30	616	195	843	6	27	7,5	8,5	7	57
Moyenne		0	0 à 1	3,5 0 à 8	68,5 52 à 86	21,5 10 à 38	93,5 81 à 100	0,5 0 à 40	3 0 à 8,5	1 0 à 2	1 0 à 4	1 0 à 3	6,5

Tableau n° X Coloration ISAAC-WURDH Période prépubérale (7 observations)

Numéro du trot- toir	Nombre de cellules comptées	Types cellulaires en pourcentage											
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles					
		Type C <sub>2</sub> 3 <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub> 4 <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub> 5 <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub> 6 <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub> kérat. 7 <sub>6</sub>	Total 8	Type C <sub>2</sub> 9 <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub> 10 <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub> 11 <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub> 12 <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub> 13 <sub>6</sub>	Total 14
Z i/i	508	0	0	12,0	59,0	27,0	98,0	0	0	0,5	1,5	0	2,0
A1	895	0	0	3,5	46,5	46,5	96,5	0	0	0	3,5	0	3,5
A 92/1	226	0	0	10,0	38,5	30,0	78,5	0	1,0	11,0	9,5	0	21,5
A 94/1	751	0	0	11,5	30,5	31,5	73,5						26,5
A 93/1	271	0	0	21,0	42,0	17,5	70,5	5,0	7,0	8,0	6,0	3,5	29,5
A 95/1	330	0	0	2,0	39,0	6,5	47,5	1,5	34	6,0	6,0	5,0	52,5
A 96/1	260	0	0	1,0	22,0	2,0	25,0	11,5	32,0	23,5	16,0	2,0	75,0
Total		0	0	61,0	277,5	151,0	489,5	8,0	74,0	49,0	42,5	10,5	210,5
Moyenne		0	0	9	39,5	21,5	70	1,5	12	8	7	1,5	30

Tableau  $\bar{X}_a$  - Coloration ISAAC-WURCH :

RECAPITULATION GENERALE DES FROTTIS VAGINAUX

1	Oestrus	Post-oestrus	Di-oestrus	Pro-oestrus	Anoestrus		Gestation	Période prépubé- rale
	2	3	4	5	Actifs 6	Passifs 7	8	9
Cellules acidophi- les Total	96% (95-97%)	66,75 (29-99)	38 (7,5-61)	83 (72-99,5)	90 (85-97)	59 (50-66)	93,5 (81-100)	70 (25-98)
C <sub>6</sub> A	28,5% (14,5-43)	22 (4,5-45,5)	5 (1-13,5)	24 (8,25-47)	34 (21-43)	13 (9-17)	21,5 (10-38)	21,5 (2-46,5)
C <sub>5</sub> A	51% (47-52)	41,5 (20-70,5)	30 (6-53)	54 (32-66)	53,5 (43-63)	41 (30-49)	68,5 (52-86)	39,5 (22-58)
C <sub>4</sub> A	70% (0,5-33)	3,25 (0-16,5)	3 (0-19)	5 (0-13)	3 (1-6)	5 (0,5-9)	3,5 (0-8)	9 (1-12)
C <sub>3</sub> A	0,5% (0-1,5)	0	1 (0,05)	0	0	0	1 (0-1)	0
C <sub>2</sub> A	0	0	0	0	0	0	0	0
Cellules basophiles Total	4 (3-5)	33,25 (1-71)	62 (39-92,5)	17 (0,5-28)	95 (3-15)	41 (34-48)	6,5 (0-19)	30 (2-75)
C <sub>6</sub> B	1 (1-1,5)	4 (0-15)	3 (1-7,5)	2 (0-9)	1 (0-2,5)	2,5 (0,5-5)	1 (0-3)	1,5 (0-5)
C <sub>5</sub> B	0,25 (0-0,5)	5,5 (0-18)	6 (0,5-15,5)	3 (0-7,5)	1 (0-5)	5 (0,5-12)	1 (0-4)	7 (1,5-16)
C <sub>4</sub> B	1 (0-2)	10 (0-29)	26 (14-46)	4 (0-10,5)	2,5 (0-10)	10,5 (0,75-18)	1 (0-2)	8 (0-23,5)
C <sub>3</sub> B	1,5 (0,5-3)	12,25 (0-45,25)	25 (9,5-51,5)	6,5 (0-8,5)	5 (1-20)	15 (10-16-18)	3 (0-8,5)	12 (0-34)
C <sub>2</sub> B	0,25 (1-0,5)	1,5 (0-6,5)	2 (0-4,5)	1,5 (0-8)	0	8 (2-23)	0,5 (0-1)	5 (0-1)

cellules superficielles kératinisées ( $C_6A$ ) sont en nombre variable selon les sujets (14,5 et 43 pour cent pour les 2 observations).

Les cellules basophiles sont rares (3 et 5 pour cent) et jamais vacuolaires.

#### II- B-1-b - Post-Oestrus

Au post-oestrus (14 observations), les cellules acidophiles sont encore les plus nombreuses, surtout au début, mais leur taux est très variable pour l'ensemble de la phase (99 à 29 pour cent). Elles sont représentées en majorité par des cellules de type  $C_5A$ , superficielles et nucléées (41,5 pour cent en moyenne, 70 à 20 pour cent).

Les cellules kératinisées  $C_6A$  correspondent pendant cette phase à 22 pour cent de la population cellulaire, mais leur taux est aussi très variable (45,5 à 4,5 pour cent).

Les cellules basophiles représentent dans l'ensemble 33,25 pour cent de la population (1 à 71 pour cent). Elles comprennent surtout des cellules intermédiaires  $C_3B$  et  $C_4B$  (respectivement 12,25 (0-41 pour cent) et 10 (0-29 pour cent en moyenne)) et sont vacuolaires 8 fois sur 17 (47 pour cent des cas).

Les cellules basophiles superficielles ( $C_5B$  et  $C_6B$ ) sont rares en raison du changement d'affinité tinctoriale de la kératinisation.

#### II - B - 1 - c - DI-Oestrus

Au di-oestrus, les cellules basophiles sont les plus nombreuses (62 pour cent en moyenne : 39 à 92,5 pour cent). Elles sont représentées surtout par les cellules

.../...



de la couche intermédiaire  $C_4B$  (26 pour cent en moyenne) ; 14 à 46 pour cent) et  $C_3B$  (25 pour cent en moyenne ; 9,5 à 51,5 pour cent). Les secondes sont vacuolaires 12 fois sur 14 observations. (86 pour cent des cas) et les premières 2 fois seulement (14 pour cent des cas).

Au di-oestrus les cellules acidophiles sont peu nombreuses (38 pour cent en moyenne, ; 7,5 à 61 pour cent).

Elles sont représentées principalement par le type superficiel nucléé  $C_5A$  (30 pour cent en moyenne ; 6 à 53 pour cent). Les cellules kératinisées  $C_6A$  sont rares (5 pour cent en moyenne ; 1 à 13,5 pour cent).

#### II - B - 1 - d - Pro-oestrus

Au moment du pro-oestrus (13 observations), les cellules acidophiles augmentent en nombre (83 pour cent en moyenne ; 72 à 99,5 pour cent). Elles sont en majorité du type superficiel nucléé  $C_5A$  (54 pour cent en moyenne 32 à 66 pour cent). Les cellules kératinisées  $C_6A$  représentent en moyenne 24 pour cent de la population cellulaire (8,25 à 47 pour cent).

#### II - B - 1 - e - Anoestrus

Pour les frottis vaginaux de l'anoestrus (13 observations), l'examen des ovaires a montré que sur les 13 femelles zébus, 4 conservent une activité folliculaire importante que les autres ne présentent pas d'activité folliculaire notable et que pour chacun de ces deux groupes les frottis vaginaux sont différents.

Anoestrus actif

Pour les femelles zébus à anoestrus actif (4 observations), les cellules acidophiles sont très nombreuses (90,5 pour cent en moyenne 85 à 96,5 pour cent). La présence de nombreuses cellules superficielles acidophiles et nucléées de type C<sub>5</sub>A (53,5 pour cent en moyenne ; 43,5 à 63 pour cent) et l'abondance relative des cellules kératinisées C<sub>6</sub>A (34 pour cent en moyenne ; 21 à 43 pour cent) ne permet pas de distinguer ces frottis de ceux de l'oestrus ou du début du post-oestrus.

Les cellules basophiles représentent 9,5 pour cent de la population en moyenne (3,5 à 15 pour cent) dont plus de la moitié sont des cellules de la couche moyenne elles-mêmes 1 fois sur 4 vacuolisées.

Anoestrus passif

Pour les 9 femelles zébus à anoestrus passif, le taux des cellules acidophiles est relativement bas (59 pour cent en moyenne ; 50,5 à 65,5 pour cent). Le type C<sub>5</sub>A est le plus important (41 pour cent en moyenne ; 30,5 à 48,5 pour cent) et les cellules kératinisées C<sub>6</sub>A ont un taux moyen (13 pour cent en moyenne ; 9 à 17,5 pour cent).

Les cellules basophiles représentent 41 pour cent de la population (34,5 à 49,5 pour cent) dont 25 pour cent appartiennent, à la couche moyenne et sont vacuolisées 4 fois sur 9. Les caractères de ces frottis sont les mêmes que ceux du début du di-oestrus ou de la fin du pro-oestrus.

II - B - 1 f - Gestation

Frottis vaginaux de gestation (9 observations).

.../...

Les frottis vaginaux des 9 femelles gestantes que nous avons examinés présentent les caractères suivants : les cellules acidophiles sont très nombreuses (93,5 pour cent en moyenne ; 81 à 100 pour cent) et représentées surtout par des cellules superficielles nucléées  $C_5A$  (68,5 pour cent en moyenne ; 52 à 86 pour cent) isolées ou associées en plages (vaches 47 et 52). Les cellules kératinisées  $C_6A$  représentent 21,5 pour cent de la population (10 à 38 pour cent).

Comme pour l'anoestrus actif, ce type de frottis est difficile à distinguer de ceux d'une fin de pro-oestrus ou d'un début de post-oestrus.

Sur les frottis vaginaux de gestation nous avons en outre observé des cellules de forme naviculaire déjà décrites dans d'autres espèces et des cellules disposées en chapelets, en grappes ou en plages.

Les cellules naviculaires sont des petites cellules basophiles de la couche intermédiaire,  $C_3B$  qui prennent un aspect fusiforme. Le noyau est parfois excentrique, refoulé par une grosse vacuole cytoplasmique. Elles sont considérées souvent comme caractéristiques de la gestation. Nous les avons observées 4 fois sur 9 (vaches 45, 47, 50 et 54). Une fois des cellules naviculaires plus grosses semblaient être du type  $C_4B$  (vache 52).

Les cellules en chapelets sont des petites cellules de la couche basale externe, basophiles ( $C_2B$ ), qui se présentent sur les frottis sous la forme de chaînes monocellulaires plus ou moins longues et sinueuses. Nous les avons rencontrées 4 fois sur 9 (vaches 50, 54, 65, et 72)

Les plages sont représentées par des cellules parabasales du même type, basophiles ( $C_2B$ ), qui restent

.../...

associées et forment des plages plus ou moins grandes et dispersées sur le frottis. Nous les avons rencontrées 5 fois sur 9 (vaches 50, 54, 65, 83 et 84).

Enfin ces cellules peuvent être disposées en grappes. Nous les avons rencontrées 4 fois sur 9 (vaches 47, 50, 54 et 84)

Au total ces quatre types de forme et d'association cellulaires coexistent sur un frottis (50). Les trois types (cellules naviculaires, cellules en chapelet et cellules en grappes) coexistent sur 3 frottis (50 et 54, et 84) ; une fois les cellules en chapelet sont associées aux plages (65) ; cellules naviculaires coexistent une fois avec les cellules en chapelet (72) et une fois avec les cellules en plage (83) ; trois fois les cellules naviculaires sont seules présentes (45, 47 et 52).

#### II - B - 1 - g - Période prépubérale

Les frottis prépubéraux (7 observations) que nous avons effectués sur une génisse d'expérience en Décembre 1976 et Janvier 1977 (premières chaleurs le 1er Février), se caractérisent par leur variabilité. Les cellules acidophiles sont comprises entre 25 et 98 pour cent (moyenne 70 pour cent). Elles sont représentées principalement par le type superficiel acidophile et nucléé  $C_5A$  (39,5 pour cent en moyenne ; 22 à 59 pour cent). Les cellules kératinisées  $C_6A$  sont parfois nombreuses (2 à 46,5 pour cent ; moyenne 21,5 pour cent).

Les cellules basophiles varient de 2 à 75 pour cent (moyenne 30 pour cent). Elles comprennent souvent un fort contingent de cellules de la couche moyenne  $C_3B$  (12 pour cent en moyenne ; 0 à 74 pour cent) et  $C_4B$  (8 pour cent en moyenne ; 0 à 23,5 pour cent).

Ces frottis peuvent donc être confondus avec ceux de la plupart des phases du cycle.

.../...

N° du frottis	Nombre de cellules comptées	TYPES CELLULAIRES - POURCENTAGE												C <sub>3</sub> et C <sub>4</sub>
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles						
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total	
Z1	508	0	0	12,17	58,87	27	98	0	0	0,25	1,50	0	2	12,50
A1	895	0	0	3,50	46,50	46	96	0	0	Trace	4	0	4	3,50
A92	226	0	0	10	38	30	68	0	5,75	8	5,75	2	22	24
A93	271	0	0	21	42	7,50	70	5	7	8	6	3	29,50	36
A94	751	0	0	11	30,50	31	73	2	6,50	10	7	5	27	27,50
A95	330	0	0	2	39	6,50	47,50	1,50	43	6	6	5	52,50	51
A 96	200	0	0	0,80	22	2	25	1,50	32	23	16	2	75	56
A97	380	0	0	8	58	8	75	0	1	13	11	0	25	22,50
A98	503	0	0	33,50	47	14,50	95	0,60	0,40	2	0,60	1	5	36
A99	231	0	0	4	20	9,50	34	0	9,50	29	18	9,50	61	43
A100	289	0	0	4	35	6	45	5	23	20	4	3	55	46
A101	264	0	0	17	33	14	64,50	0,76	0	5	14	15	35,50	22
A102	346	0	0	5	33,50	9,50	48	3	13	20	10	7	52	36
A103	256	0	0	3	34	5	43	0	36	16	4	2	57	54,50
A104	253	0	0	0	29	2	31	3,50	24	32	5	3,50	69	56,5
A105	276	0	0	5	53	3	61	4	13	15	6	0,70	39	33

N° du frottis	Nombre de cellules comptées	TYPES CELLULAIRES - POURCENTAGE												C <sub>3</sub> et C <sub>4</sub>
		Cellules acidophiles						Cellules basophiles						
		Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total	Type C <sub>2</sub>	Type C <sub>3</sub>	Type C <sub>4</sub>	Type C <sub>5</sub>	Type C <sub>6</sub>	Total	
A105	196	0	0	2	43	3	53	4	9	22	6	5	47	33,50
A107	204	0	0	5	31	5	41	2	15,50	22	15,50	4	59	42,50
A108	346	0	0	2	16	3,50	21	4	37,50	25	4	7,50	78,50	65
A109	303	0	0	5	32	8	75	2	4	9	8	3	25	17,50
A110	306	0	0	17	40	21	74	2	6,50	10	5	2	26	30
A111	566	0	0	8	30	26,50	65	0	15	11	4	4	35	34
A112	350	0	0	0,50	24	4,50	29	4,50	32,50	23	6	5	71	53
A112'	218	0	0	0,50	6	1	7	5	5	23	10	3	93	75,50
A113	379	0	0	0,25	5	4	11	1	41	38	5	3	87	79,50
A114	280	0	0	4	41	3,50	49	0	13	23	11	2	51	40
A115	320	0	0	2,50	24	4,50	31,25	0	13,75	45	7	3	69	61
A116	255	0	0	12,50	43	27,50	83	1	2	2	2	5	12	16,50
A117	211	0	0	0,50	39	12	51	7	22	2	7	2	49	24
A121	253	0	0	1	30	3,50	34,50	2	45	10	5	3	65,50	56
A125	267	0	0	1,50	44	17	62	2	17	9	7	3	38	17,50
A126	330	0	0	2	43	10,50	61,50	3	15	11	5	3	38	29
A127	237	0	0	8	30	14	52	5	17	14	8	5	48	39
A128	224	0	0	9	4	10	53	6	16	18	5	13	47	43
A129	260	0	0	7	35	9	50	7	11	16	12	3	50	34
A130	201	0	0	5,50	43	10,50	64	3	13	8	4	2	36	28
A131	360	0	0	9	3	16,50	65,50	5	17	7	3	2	34	34

11 - B - 2 - Variations pour la génisse  
d'expérience

Le tableau n° XI rapporte dans l'ordre chronologique les résultats observés sur la génisse d'expérience entre le 21 Décembre et le 30 Avril 1977. Pendant cette période, 37 séries de prélèvements ont été effectuées. Le tableau indique successivement la date du prélèvement (1), le numéro du frottis (2), le nombre des cellules comptées (3) puis, en pourcentages et en valeurs absolues, les cellules acidophiles de types C<sub>2</sub> (4), C<sub>3</sub> (5), C<sub>4</sub> (6), C<sub>5</sub> (7), C<sub>6</sub> kératinisées (8) et leur total (9), les cellules basophiles de types C<sub>2</sub> (10), C<sub>3</sub> (11), C<sub>4</sub> (12), C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub> (14) et leur total. Le tableau indique en outre (colonne 15) les nombres et les fréquences de l'ensemble des cellules de la couche intermédiaire (C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub>) qu'elles soient basophiles ou acidophiles.

Les graphiques n° 1a, 1b et 1c concrétisent les données du tableau n° XI en ce qui concerne les variations de pourcentages des principaux types cellulaires : l'ensemble des cellules acidophiles (traits pleins épais), les cellules kératinisées (traits pleins fins) et l'ensemble des cellules de la couche intermédiaire (pointillés). Les variations de ces dernières sont l'inverse de celles des cellules superficielles en raison des très faibles fréquences atteintes par les cellules de la couche profonde. L'une ou l'autre de ces catégories cellulaires peuvent indifféremment être prises comme critère.

Les tableaux et les graphiques montrent qu'au cours de la période d'observation, la génisse a présenté plusieurs types d'activité sexuelle. Avant les premières chaleurs qui se sont produites le 1er Février 1977, les variations enregistrées correspondent à la phase pré-pubérale. Les premières chaleurs ont été suivies de deux autres séparées par deux phases inter-oestralles, la première caractérisée par des variations très irrégulières  
.../...

des divers types cellulaires des frottis, la seconde au contraire par des variations de fréquences progressives et continues. Nous le considérerons comme typique d'un cycle régulier. Après les troisièmes chaleurs, la génisse s'est trouvée en période d'anoestrus confirmée par l'état de ses organes génitaux lors de l'abattage effectué le 27<sup>e</sup> Juin 1977.

Les variations cytologiques correspondent donc à des frottis de phase de repos sexuel. Nous rapporterons tour à tour les caractéristiques de ces trois états fonctionnels.

#### II - B - 2 a - Variations au cours d'un cycle type

Au cours de la seconde phase inter-oestrale de la génisse d'expérience les cellules acidophiles sont à un taux très bas au 18<sup>ème</sup> jour qui suit l'oestrus. Elles augmentent ensuite, de plus en plus rapidement, pour atteindre un taux maximum à l'oestrus suivant ou dans les deux ou trois jours qui le précèdent. Leurs fréquences diminuent ensuite progressivement pendant le post-oestrus suivant.

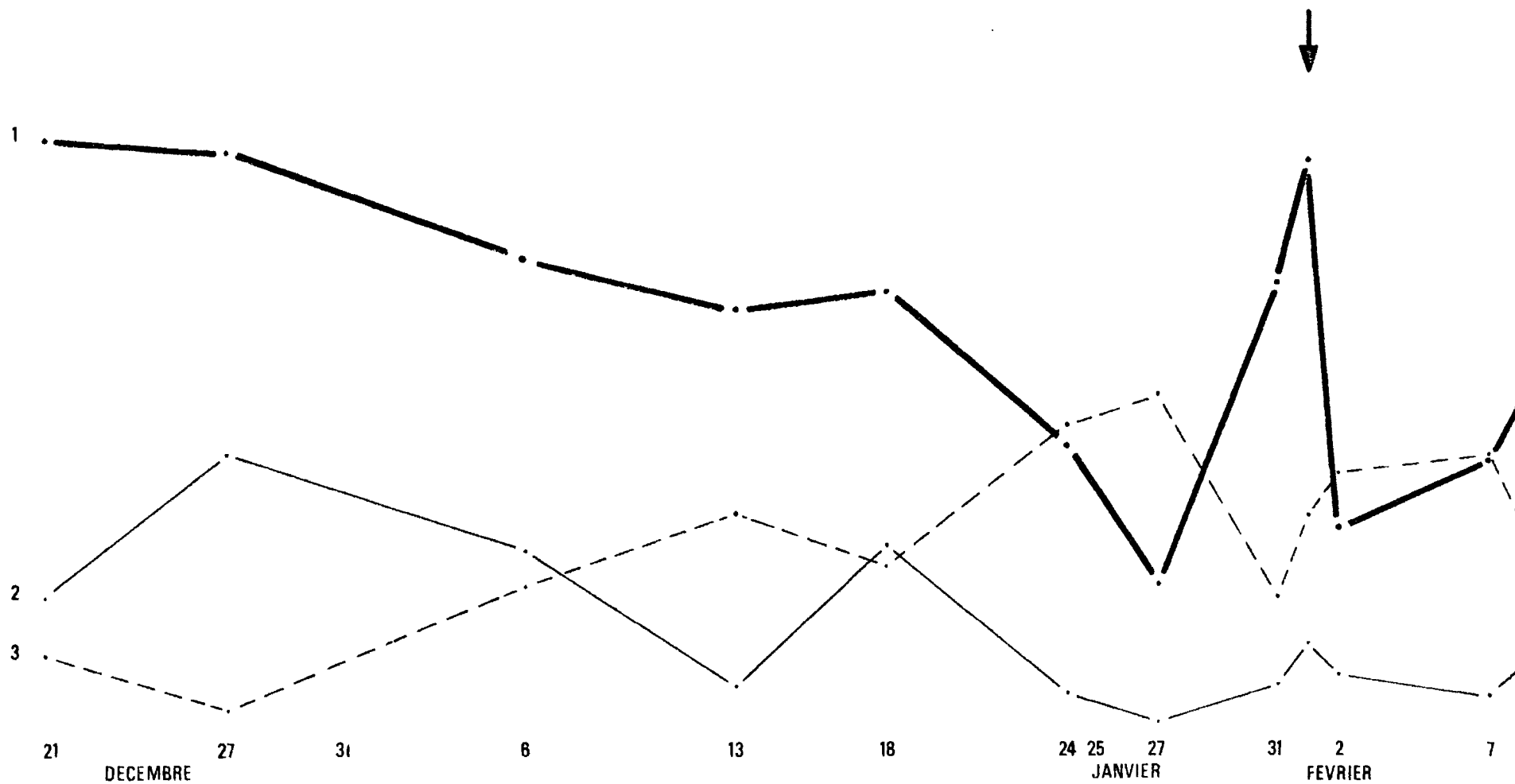
Les deux types cellulaires superficiels acidophiles ne varient pas de la même façon. Le type nucléé C<sub>5</sub>A évolue comme l'ensemble des cellules acidophiles dont il représente toujours le plus fort contingent; ses variations ne figurent pas sur le graphique pour cette raison. Les cellules kératinisées C<sub>6</sub>A au contraire varient de façon particulière. Elles sont à des taux très bas dès le 8<sup>ème</sup> jour qui suit l'oestrus et leurs fréquences ne s'accroissent nettement que pendant les 3 ou 4 jours qui précèdent l'oestrus suivant. Leur taux est en outre très fort pendant les 4 ou 5 premiers jours du post-oestrus.

.../...



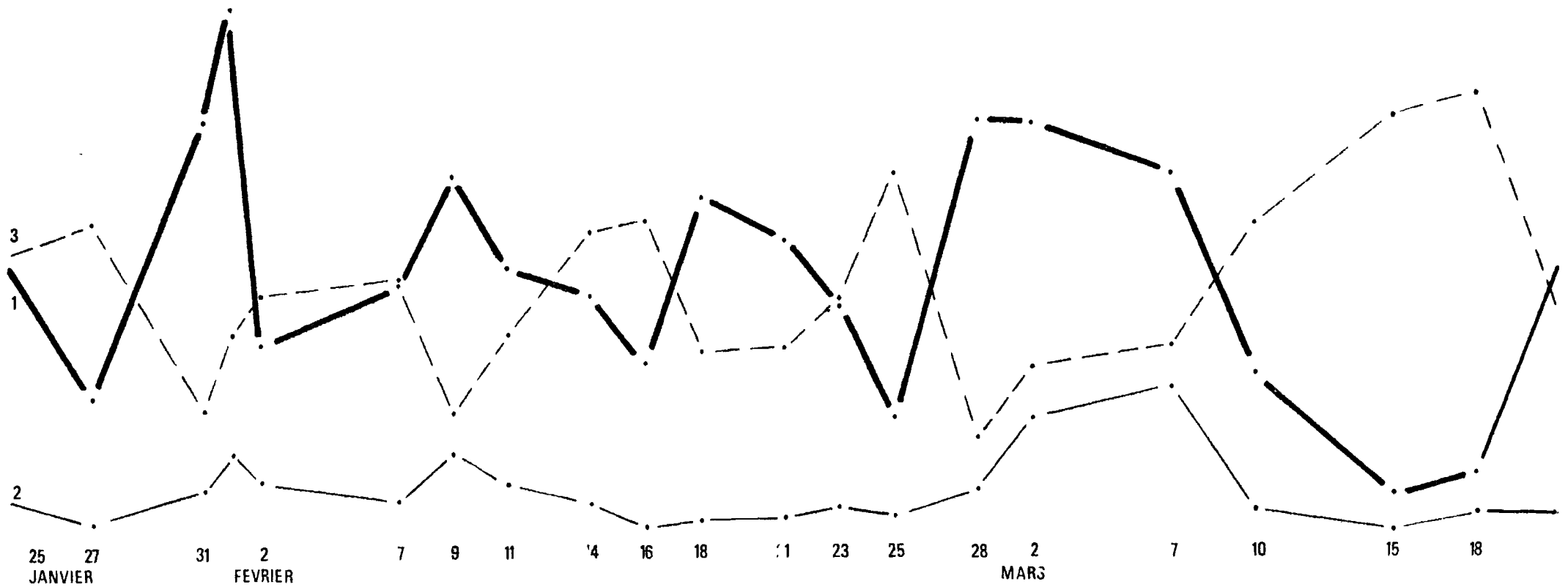
Graphique n° 1a : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE  
(Coloration par la Méthode d'Issac et Wurch)

- 1 - Fréquences totales des cellules acidophiles
- 2 - Fréquences des cellules kératinisées
- 3 - Fréquences des cellules de la couche intermédiaire



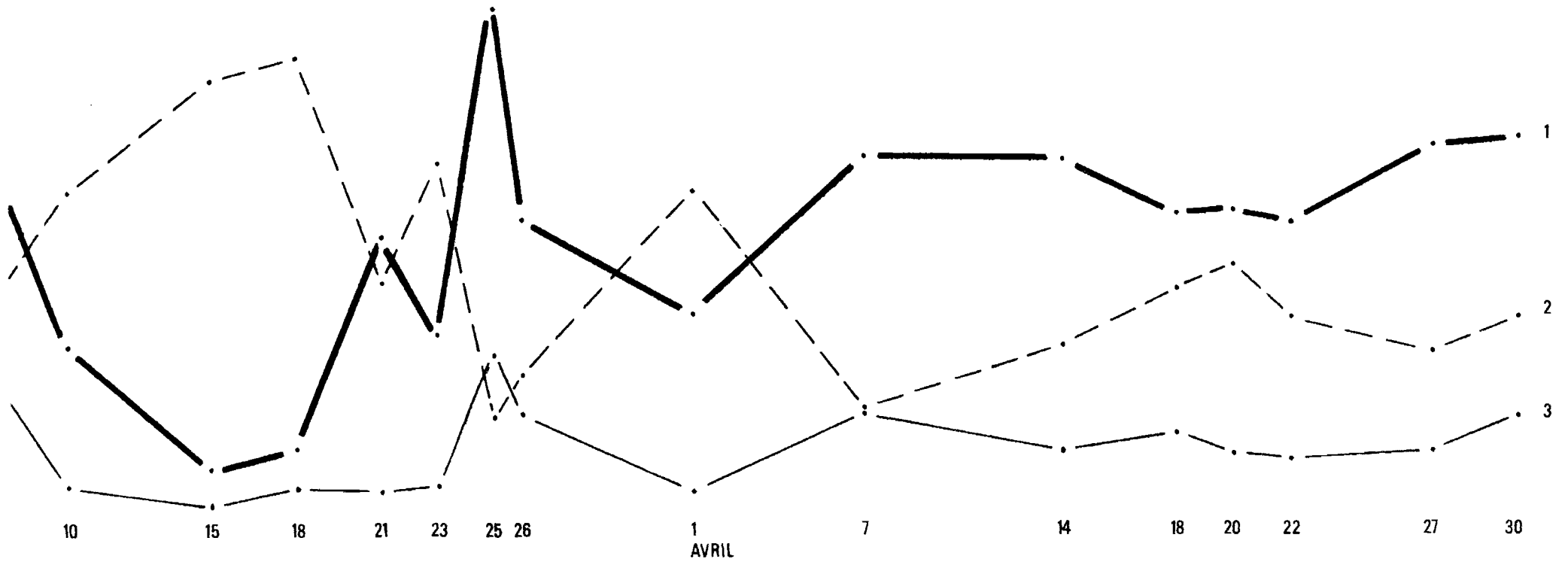
Graphique n° 1b : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE  
(Coloration par la Méthode d'Issac et Wurch)

- 1 - Fréquences totales des cellules acidophiles
- 2 - Fréquences des cellules kératinisées
- 3 - Fréquences des cellules de la couche intermédiaire



Graphique n° 1c : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE  
(Coloration par la Méthode d'Issac et Wurch)

- 1 - Fréquences totales des cellules acidophiles
- 2 - Fréquences des cellules kératinisées
- 3 - Fréquences des cellules de la couche intermédiaire



Les cellules basophiles varient à l'inverse des acidophiles. Leur fréquence est maximal vers le 12<sup>e</sup> jour du cycle (Di-oestrus) et elles sont à cette période d'hypoplasie épithéliale représentées principalement par les cellules intermédiaires C<sub>3</sub>B et C<sub>4</sub>D.

L'ensemble des cellules intermédiaires dont les variations figurent sur le graphique varient comme les cellules basophiles. Leur taux est minimal à l'oestrus et maximal vers le 12<sup>ème</sup> jour du cycle.

11 - B - 2 - b - Evolution cellulaire des frot-  
tis au cours de l'anoestrus

Le troisième et dernier oestrus de la génisse d'expérience s'est produit au cours de la nuit du 25 au 26 mars.

Durant les 5 premiers jours qui lui ont succédé l'évolution de l'ensemble des cellules acidophiles est celle d'un post-oestrus normal : leur taux diminue progressivement. Les cellules kératinisées par contre chutent brutalement après l'oestrus, tandis que les types intermédiaires atteignent des taux caractéristiques du di-oestrus dès le 6<sup>e</sup> jour qui suit les chaleurs. Par la suite, les cellules acidophiles, et particulièrement le type C<sub>5</sub>A se maintiennent à un taux élevé tandis que les cellules kératinisées et celles de la couche intermédiaire, restent à des taux très faibles.

Ces caractéristiques cytologiques qui traduisent l'existence d'une prolifération cellulaire typique de la phase oestrogénique non suivie de la kératinisation de la phase progestative, suggèrent que cet anoestrus est du type anoestrus avec persistance de l'activité folliculaire. Cette hypothèse s'est révélée exacte après l'examen des ovaires qui a suivi l'abattage.

.../...

### De la période prépubérale

Entre le 21 Décembre et le 1er Février date de ses premières chaleurs, la génisse d'expérience a présenté des variations cytologiques particulières.

Du 21 Décembre au 21 Janvier, le taux des cellules acidophiles est resté élevé ( 50 pour cent). Il est accompagné, pendant la première moitié de cette période d'une importante desquamation de cellules kératinisées (C<sub>6</sub>A) et d'un très faible taux de cellules de la couche intermédiaire (C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub>, A et B).

Après le 21 Janvier, les fréquences cellulaires prennent les valeurs d'un di-oestrus, puis évoluent comme dans un cycle normal jusqu'aux chaleurs 1er Février.

### III - DIAGNOSTIC HORMONAL DE LA PHASE DU CYCLE · PAR DETECTION DES LIPIDES SUR LES FROTTIS VAGINAUX

Le diagnostic hormonal des phases du cycle oestral par mise en évidence des lipides cellulaires a été étudié selon deux modalités : une série de prélèvements correspondant à des animaux différents et une série de prélèvements pratiqués sur la génisse d'expérience.

### III - A - Etude générale des modifications des lipides cellulaires

Les tableaux n° XII à XVII établis en fonction des phases du cycle se rapportent à des frottis vaginaux colorés à l'oil Red O pour la recherche des variations cycliques des lipides intracytoplasmiques. Ils indiquent pour chaque frottis le numéro correspondant (colonne1),

.../...

Tableau n° ~~XIV~~ Coloration oil Red O OESTRUS (2 observations)

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 6AA 8	Irrégulier 7AA 9	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non confluent 13
A 98/2	224	75	9	45	21	25	100	0	93	7	1	99
118/3	228	79	13	48	18	21	97	13	60	40	0	100

Tableau n° XIII Coloration oil Red O POST-OESTRUS (6 observations)

numéro u rotti	Nombre de cellules comptées	Pourcen- tage des cellules à granu- lations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier ← AA 8	Irrégu- lier → AA	Homogène 10	Non ho- mogène <sub>1</sub>	Confluent 12	Non confl 13
121/3	169	30	0	2	28	70	33	67	8	92	80	20
102/2	172	30	0	7	23	70	54	46	8	92	85	15
117/2	134	40	0	4	36	60	78	22	11	89	89	11
119/3	171	42	0	10,5	31,5	58	63	37	25	75	75	25
111/2	167	47	0	12	35	53	6	94	28	72	87	13
99/2	247	49	2	17	30	51	70	30	41	59	71	29
total		238	2	52,5	183,5	362	304	296	121	479	487	113
yen.		40	0,5	9	30,5	60	51	49	20	80	81	19

Tableau n°  $\overline{XY}$  Coloration oil Red O PRO-OESTRUS (5 observations)

Séro atti	Nombre de cellules comptées	Pourcen- tage des cellules à granu- lations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	P ou A 7	Régulier 6-8 $\mu$	Irrégu- lier 7-11 $\mu$	Homogène 10	Non ho- mogène <sub>1</sub>	Confluent 12	Non confl. 13
0/2	190	24	0	6	18	76	78	22	30	70	4	96
17/2	266	38	3	13	22	62	80	20	41	59	0	100
23/3	220	54,5	0	34	20,5	45,5	71	29	62,5	37,5	0	100
26/2	263	56	0	29	27	44	82	18	57	43	1	99
29/2	202	64	1	12	51	36	60	40	34	66	5	95
Total		236,5	4	94	138,5	263,5	371	129	124,5	275,5	10	490
ren.		47	1	18,5	27,5	53	74	36	45	55	2	98



Tableau n° XVI Coloration oil Red O ANOESTRUS (7 observations)

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 8	Irrégulier 9	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non confluent 13
A129/3	130	15	0	0	15	85	0	100	25	75	100	0
A126/3	122	15	0	5	10	85	56	44	56	44	67	33
A127/3	120	17,5	0	10	7,5	82,5	100	0	71	29	0	100
A128/3	178	25	0	2,5	22,5	75	27	73	73	27	73	27
A131/3	141	31	0	6	21	73	42	58	47	53	55	45
A102/2	186	31	1	7,5	22,5	69	62	38	34	66	28	72
A125/3	131	51	0	8	43	49	9	91	18	82	91	9
Total		181,5	1	39,0	141,5	518,5	296	404	324	376	414	286
Moyen.		26	T	6	20	74	42	58	46	54	59	41

Tableau n° XVII Coloration oil Red O

Période prépubérale (4 observations)

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 6-8µ 8	Irrégulier 7-11µ 9	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non con 13
A95/2	162	20	1	5	15	80	48	52	33	67	76	24
A92/2	130	20	0	8	12	80	92	8	62	38	0	100
A93/2	162	51	1	16	34	49	61	39	50	50	4	96
A94/2	163	54	2	24	28	46	69	31	64	36	3	97
Total		145	4	53	89	255	270	130	209	191	83	317
Moyen		36	1	13	22	64	67,5	32,5	52	48	21	79

le nombre des cellules comptées sur chacun d'eux (colonne 2), puis successivement la fréquence, des cellules à granulations considérées dans, leur ensemble (colonne 3) et selon que les grains qu'elles renferment sont très nombreuses (TN ; colonne 4), nombreux (N ; colonne 5), peu nombreux (PN ; colonne 6). La colonne 7 indique le nombre et la fréquence des cellules où les granulations sont rares ou absentes (R ou A). Les colonnes suivantes indiquent par rapport à l'ensemble des cellules granulées, le nombre et le taux de ces cellules dans lesquelles les grains sont petits (colonne 8) ou gros (colonne 9), répartis de façon homogène (colonne 10) ou non (colonne 11) et confluent (colonne 12) ou non (colonne 13).

Le tableau n° XVIII résume les données précédentes

### III - A - 1 - Au moment de l'oestrus

Au moment de l'oestrus, (2 observations), le nombre des cellules granulées est très élevé (75 et 79 pour cent) et la majorité des cellules ont des granulations lipidiques très nombreuses (9 et 13 pour cent) ou nombreuses (45 et 48 pour cent), de petite taille (100 et 87 pour cent) et non confluent (99 et 100 pour cent). Bien qu'homogène dans la plupart des cas (93 et 60 pour cent), la répartition des grains est moins caractéristique car elle présente le même caractère à d'autres phases du cycle.

### III - A - 2 - Au post-oestrus

Au post-oestrus (6 observations), le nombre des cellules granulées est plus faible (40 pour cent en moyenne ; 30 à 49 pour cent). Lorsqu'ils sont présents, les grains sont le plus souvent peu nombreux (30,5 pour cent en moyenne ; 23 à 36 pour cent), rarement nombreux (9 pour cent) .../...

## RECAPITULATION GENERALE DES FROTTIS VAGINAUX

37 observations		Oestrus	Post-Oestrus	Di-Oestrus	Pro-Oestrus	Anoestrus	Période prépubérea
Nombre de cellules à granulations		75 et 79	40(30-49)	21(4-38)	47(24-64)	26(15-51)	30(20-54)
Densité des grains	TN	9 et 13	0,5(0-2)	T(0-1,5)	1(0-3)	T(0-1)	1(0-2)
	N	45 et 48	9 (2-17)	6,5(0-21)	18,5(6-34)	6(0-10)	13(5-24)
	PN	21 et 18	30,5(23-36)	14,5(3-27)	27(18-51)	20(7,5-43)	22(12-34)
	R/A	25 et 21	60(51-70)	79(62-96)	53(36-76)	74(49-85)	64(46-80)
Diamètre des grains	Petits	100 et 87	51(60-70)	87(62-100)	74(60-82)	42(0-100)	67,5(48-92)
	Gros	0 et 13	49(94-30)	13(38-0)	36(18-40)	58(0-100)	32,5(8-52)
Répartition des grains	Homogène	93 et 60	20(8-41)	44(0-100)	45(30-62,5)	46(18-73)	52(33-64)
	Non homogène	7 et 40	80(59-92)	56(0-100)	55(37,5-70)	54(27-82)	48(36-67)
Confluence des grains confluents		1 et 0	81(71-89)	10(0-40)	2(0-5)	59(0-100)	21(0-76)
	Non confluents	99 et 100	19(29-11)	90(60-100)	98(95-100)	41(0-100)	79(24-100)

cent en moyenne ; 2 à 17 pour cent) et exceptionnellement très nombreux (0,5 pour cent en moyenne ; 0 à 2). Les grains peuvent être aussi bien petits (51 pour cent en moyenne ; 6 à 70 pour cent) que gros (49 pour cent ; 30 à 94 pour cent). Ils sont plus souvent répartis de façon inhomogène (80 pour cent en moyenne ; 59 à 92 pour cent) que distribués régulièrement (20 pour cent en moyenne ; 8 à 41 pour cent). Ils sont surtout confluent (81 pour cent en moyenne ; 71 à 89 pour cent), les cellules à grains indépendants étant rares (19 pour cent en moyenne ; 11 à 29 pour cent).

### III - 3 - En période de Di-oestrus

En période de di-oestrus (10 observations), les cellules granuleuses sont à leur taux le plus bas (21 pour cent en moyenne ; 4 à 38 pour cent), parmi elles, les cellules à granulations peu nombreuses sont les plus fréquentes (14,5 pour cent ; 3 à 27 pour cent) contre 6,5 pour cent pour les nombreuses (0 à 21 pour cent). Les cellules granuleuses sont pour la plupart à grains fins (87 pour cent en moyenne ; 62 à 100 pour cent) dont la répartition est très variable : homogène 44 pour cent des cas (0 à 100 pour cent) et inhomogène 56 pour cent (0 à 100 pour cent), mais dont la non confluence est très fréquente (90 pour cent en moyenne ; 60 à 100 pour cent).

### III - A - 4 - Au pro-oestrus

Au pro-oestrus (6 observations) le nombre de cellules à grains augmente (47 pour cent en moyenne ; 24 à 64 pour cent). Les granulations sont un peu plus souvent peu nombreuses (27,5 pour cent en moyenne ; 18 à 51 pour cent) que nombreuses (18,5 pour cent en moyenne ; 6 à 34 pour cent) ou très nombreuses (1 pour cent en moyenne ; 0 à 3 pour cent). Les grains sont le plus souvent petits  
.../...

(74 pour cent en moyenne ; 60 à 82 pour cent), répartis de façon variable : homogène dans 45 pour cent des cas (30 à 62,5 pour cent) et inhomogène dans 55 pour cent (37,5 à 70 pour cent).

### III - A - 5 - Au cours de l'anoestrus

Au cours de l'anoestrus (7 observations), les frottis sont plus proches de ceux du di-oestrus que de ceux des autres phases. Ils sont peu riches en cellules à granulations (26 pour cent en moyenne ; 15 à 51 pour cent), chargées de grains le plus souvent peu nombreux (20 pour cent en moyenne ; 7,5 à 43 pour cent). La dimension des grains, leur répartition et leur confluence sont si variables pendant cette phase de repos qu'elles ne peuvent servir de critère de différenciation.

### III - A - 6 - La période prépubérale

Les frottis prépubéraux (4 observations) se rapprochent par leurs caractères de ceux du pro-oestrus. Comme pour cette dernière phase, la fréquence des cellules granuleuses est en moyenne 36 pour cent 20 à 54 pour cent et les grains sont en majorité petits (67,5 pour cent en moyenne ; 48-92 pour cent) et non confluent (79 pour cent en moyenne ; 24 à 100 pour cent).

### III - B - Modifications des lipides sur les frottis vaginaux de la génisse d'expérience

Le tableau XIX établi sur les mêmes bases que les tableaux précédents et les graphiques 2a, 2b et 2c sont consacrés à l'évolution des critères précédents chez

.../...

Tableau n° XIX Coloration oil Red O

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN	N	PN	R ou A	Régulier	Irrégulier	Homogène	Non homogène	Confluent	Non conf
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
A 92/2	130	20	0	8	12	80	92	8	62	38	0	100
A 93/2	162	57	1	16	34	49	61	39	50	50	4	96
A 94/2	163	54	2	24	28	46	69	31	64	36	3	97
A 95/2	162	20	1	5	15	80	48	52	33	67	76	24
A 96/2	127	5	0	2	3	95	100	0	33	67	0	100
A 97/2	266	38	3	13	22	62	80	20	41	59	0	100
A 98/2	224	75	9	45	21	25	100	0	93	7	1	99
A 99/2	247	49	2	17	30	51	70	30	41	59	71	29
	262	46	1	10	35	54	68	32	31	69	80	20
	163	46	2	15	29	54	24	76	37	63	76	24
A102/2	172	30	0	7	23	70	54	46	8	92	85	15
A103/2	176	8	0	0	8	92	100	0	0	100	0	100
A104/2	128	23,5	15	9,5	12,5	76,5	73	27	53	47	40	60
A105/2	150	27	0	0	27	73	87,5	12,5	87,5	12,5	12,5	87,
A106	152	24	0	0	24	76	73	27	73	27	0	100
A107/2	140	14	0	0	14	86	100	0	100	0	0	100
A109/2	202	64	1	12	51	36	60	40	34	66	5	95
A110/2	190	24	0	6	18	76	78	22	30	70	4	96
A111/2	167	47	0	12	35	53	6	94	28	72	87	13
A112/2	186	31	1	7,5	22,5	69	62	38	34	66	28	72
A112/2	141	4	0	0	4	96	100	0	0	100	0	100
A113/2	128	25	0	9,5	15,5	75	100	0	37,5	62,7	0	100
A114/2												
A115/2	141	32	0	11	21	68	93	7	40	60	7	93

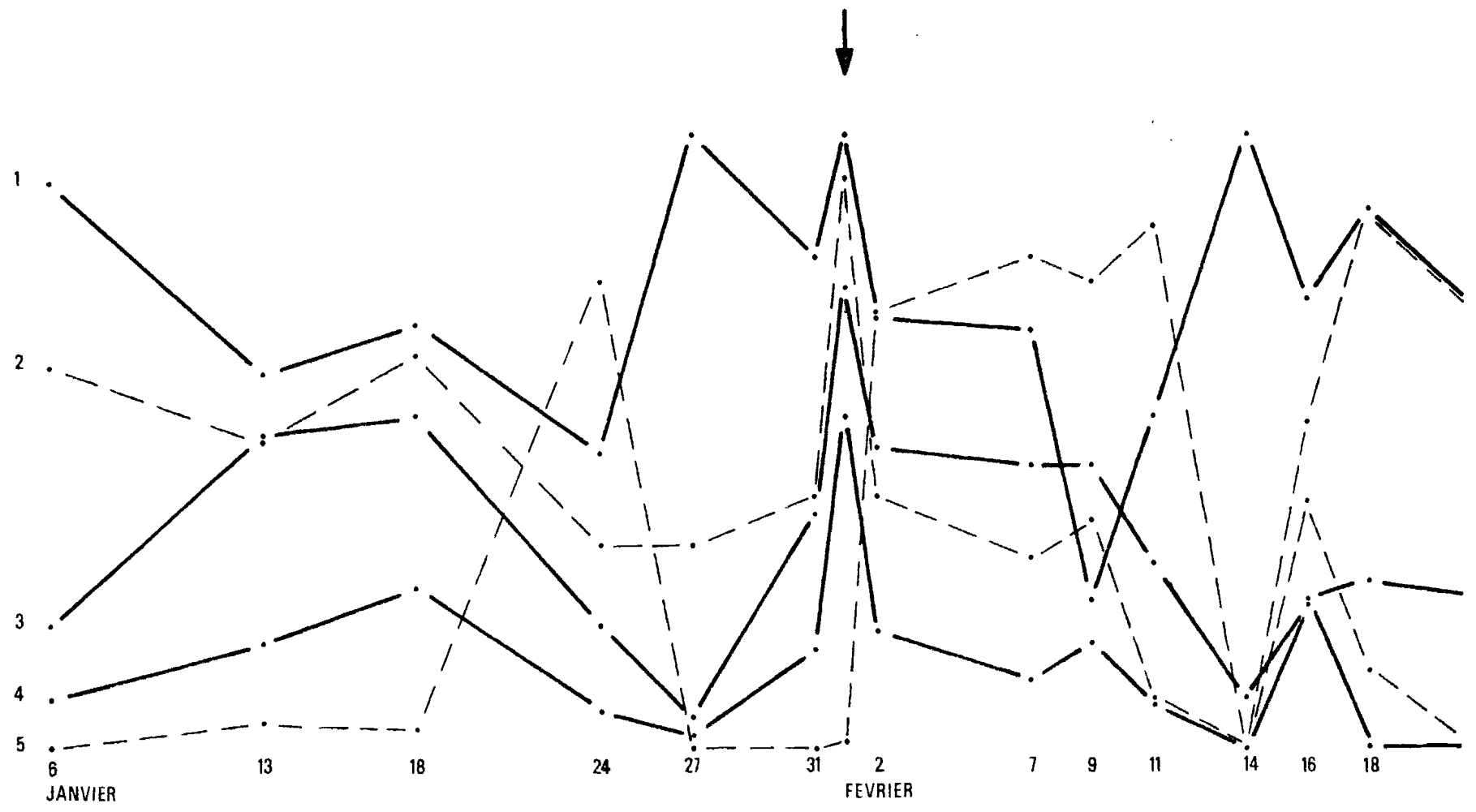
Tableau n° XIX Coloration oil Red O (suite)

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 8	Irrégulier 9	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non confluent 13
A116/2	263	56	0	29	27	44	82	18	57	43	1	99
A117/2	134	40	0	4	36	60	78	22	11	89	89	11
A119/3	171	42	0	10,5	31,5	58	63	37	25	75	75	25
A125/3	131	51	0	8	43	49	9	91	18	82	91	9
A126/3	122	15	0	5	10	85	55	44	56	44	67	33
A127/3	120	17,5	0	10	7,5	82,5	100	0	71	29	0	100
A128/3	178	25	0	25	22,5	75	27	73	73	27	73	27
A129/3	130	15	0	0	15	85	0	100	25	75	100	0
A131/3	141	27	0	6	21	73	42	58	47	53	55	45



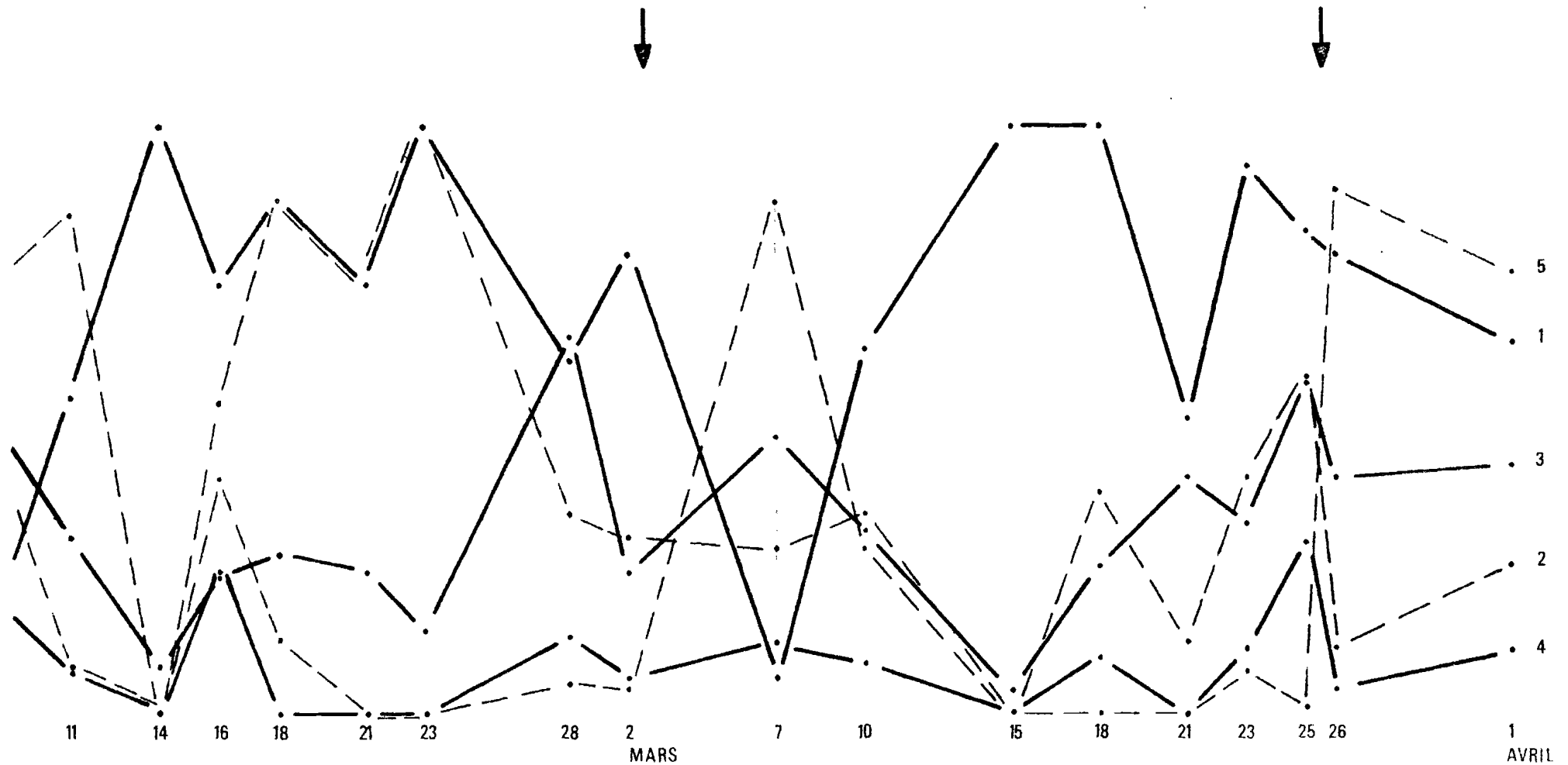
Graphique n° 2a : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE  
 (Coloration à l'Oil Red O)

- 1 - Fréquences des cellules à petits grains
- 2 - Fréquences des cellules à grains répartis de façon homogène
- 3 - Fréquences des cellules granuleuses
- 4 - Fréquences des cellules à grains nombreux et très nombreux
- 5 - Fréquences des cellules à grains confluent



Graphique n° 2b : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE  
 (Coloration à l'Oil Red O)

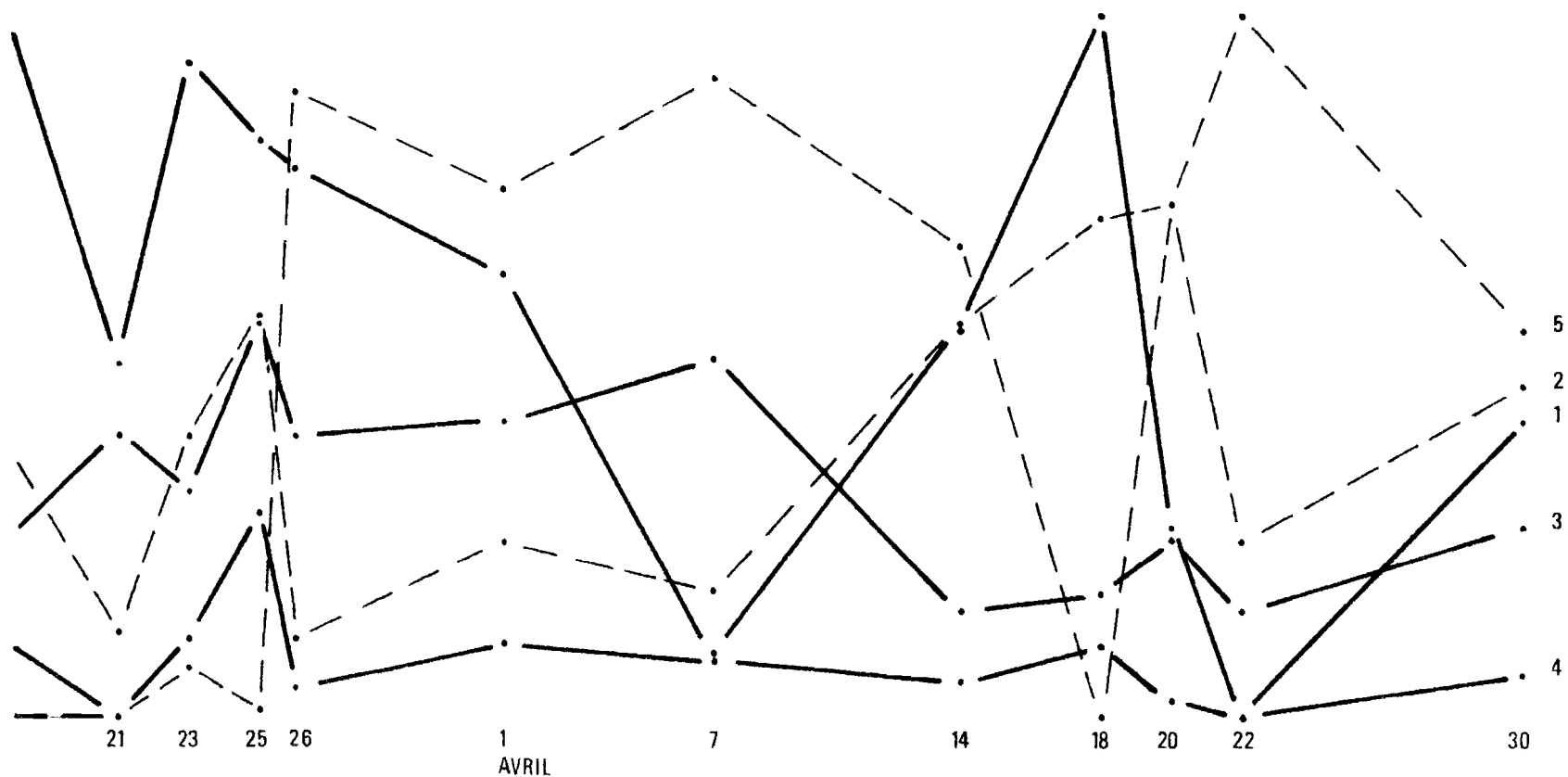
- 1 - Fréquences des cellules à petits grains
- 2 - Fréquences des cellules à grains répartis de façon homogène
- 3 - Fréquences des cellules granuleuses
- 4 - Fréquences des cellules à grains nombreux et très nombreux
- 5 - Fréquences des cellules à grains confluent



Graphique n° 2c : FROTTIS VAGINAUX DE LA GENISSE D'EXPERIENCE

(Coloration à l'Oil Red O)

- 1 - Fréquences des cellules à petits grains
- 2 - Fréquences des cellules à grains répartis de façon homogène
- 3 - Fréquences des cellules granuleuses
- 4 - Fréquences des cellules à grains nombreux et très nombreux
- 5 - Fréquences des cellules à grains confluents



la g n sse d'expérience entre le 6 janvier et le 30 avril 1977, confirmant les résultats précédents.

Ils montrent que le meilleur critère de l'oestrus est le nombre des cellules granulées, la quantité importante des grains qu'elles renferment et leur non confluence. Le faible diamètre des grains et leur répartition homogène dans le cytoplasme, caractérisent aussi l'oestrus, mais peuvent aussi être observés à d'autres phases du cycle, dans la période pr pub r le et à l'anoestrus.

Au post-oestrus, le critère le plus net est la confluence des granulations, mais sa durée est très variable (3 à 11 jours après l'oestrus).

Le di-oestrus est marqué par le faible taux des cellules granuleuses aux environs du 15e jour et pour un temps très court par la présence de grains petits et non confluents.

Au pro-oestrus, le nombre des cellules granulées augmente et les grains sont petits et non confluents.

Ils montrent enfin qu'au cours de l'anoestrus et de la période pr pub r le, les critères étudiés subissent d'importantes variations.

#### IV - DIAGNOSTIC HORMONAL DE LA PERIODE DU CYCLE PAR MISE EN EVIDENCE DES LIPIDES INTRA CELLULAIRES DANS L'UROCYTOGRAMME

Les tableaux n<sup>o</sup> XIX et suite<sup>50</sup> rapportent à des frottis effectués après centrifugation de l'urine et coloration à l'oil Red O.

Tableau n°xx Coloration oil Red O UROCYTOGRAMME OESTRUS

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R. ou A 7	Régulier 8	Irrégulier 9	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non confl. 13
V118	114	78 %	12	48	18	22	84	16	78	22	0	100
A/98	124	74	18	43	13	26	93	7	89	11	0	100
V/85	120	73	0	40	33	27	73	27	55	45	9	91
<b>Total</b>		225	30	131	64	75	250	50	222	78	9	291
<b>Moyenn</b>		75 %	10 %	44 %	21 %	25 %	83 %	17 %	74 %	26 %	3 %	97 %

Tableau n° XXI Coloration oil Red O - UROCYTOGRAMME : POST-OESTRUS

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des Granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TF	M	PN	R ou A	Régulier	Irrégulier	Homogène	Non Homogène	confluent	Non conf.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
V88	136	50	0	20,5	29,5	50	15	85	44	56	71	29
V119	106	41,5	0	9,5	32	58,5	36	64	18	82	77	23
Au 117	134	39	0	6	33	61	15	85	15	85	69	31
Au 82	135	33	0	9	24	67	7	93	27	73	93	7
Total		163,5	0	45,0	118,5	236,5	73	327	104	296	310	90
Moyenne		41	0	11	30	59	18	82	26	74	77,5	22,5

Tableau n° ~~XII~~ Coloration oil Red O UROCYTOGRAMME DI-OESTRUS

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R. ou A 7	Régulier 62,5 8	Irrégulier 37,5 9	Homogène 10	Non homogène 1	Confluent 12	Non conf 13
V124/3	114	42	0	27	25	58	62,5	37,5	58	42	8	92
V122/2	114	40	0	5	35	60	26	74	17	83	4	96
Au108/2		23	0	11,5	11,5	77	70	30	50	50	0	100
<b>Total</b>		105	0	33,5	63,5	195	158,5	141,5	125	175	12	288
<b>Moyenn</b>		35 %	0 %	11 %	24 %	65 %	53 %	47 %	42 %	58 %	4 %	96 %

Tableau n° ~~XXII~~ Coloration oil Red O : (URINE)

PRO-OESTRUS

Numéro du frottis	Nombre de cellules comptées	Pourcentage des cellules à granulations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 6-11 μ 8	Irrégulier 7-11 μ	Homogène 10	Non homogène 11	Confluent 12	Non confl. 13
U123/2	128	56 %	3	31	22	44 %	78 %	22 %	61 %	39 %	0 %	100 %
U120/2	145	48	7	24	17	53	93 %	7 %	64 %	36 %	0 %	100 %
U86/2	170	47 %		39 %	8 %	53	75 %	25 %	85 %	15 %	2,5 %	97,5
Au92/2	172	20 %	0	15	20	137	20	15	17	18	3	32
Au109/2	153	67 %	6	31,5	29,5	33 %	59 %	41 %	53 %	47 %	0 %	100 %
<b>Total</b>		218	16	125,5	76,5	182	305	95	263	157	2,5	397,5
<b>Moyenne</b>		54 %	4 %	31 %	19 %	46 %	76 %	24 %	66 %	34 %	1 %	99 %



Tableau n°xxiv Coloration oil Red O UROCYTOGRAMME - GESTATION

n°	Nombre de cellules comptées	Pourcen- tage des cellules à granu- lations	Densité des granulations				Diamètre des granulations		Répartition des granulations		Confluence des granulations	
			TN 4	N 5	PN 6	R ou A 7	Régulier 8	Irrégu- lier 9	Homogène 10	Non ho- mogène 11	Confluen 12	Non conf. 13
84	115	39	0	9	30	61	56	44	22	78	78	22

Tableau n° XXV Coloration oil Red ORECAPITULATION GENERALE DE L'UROCYTOGRAMME

Observations	Oestrus	Post-Oestrus	Di-Oestrus	Pro-Oestrus	Gestation
Nombre de cellules à granulations	75(73-78)	41(33-50)	35(23-42)	54(47-67)	39
Densité des TN	10(0-18)	0	0	4(0-7)	0
N	44(40-48)	11(6-21)	11(5-17)	31(24-39)	9
PN	21(13-33)	30(24-33)	24(15-35)	19(8-29,5)	30
R/A	25(22-27)	59(50-67)	65(58-77)	46(33-52)	61
Diamètre des grains					
Petit	83(73-93)	18(7-36)	53(26-70)	76(59-93)	56
Gros	17(27-79)	82(64-93)	47(30-74)	24(7-41)	44
Répartitions des grains					
homogène	74(55-89)	26(15-44)	42(17-58)	66(53-85)	22
non homogène	26(11-45)	74(56-85)	58(42-83)	34(15-47)	78
Influence des grains					
confluents	3(0-9)	77,5(71-93)	4(0-8)	1(0-2,5)	78
non confluents	97(91-100)	22,5(7-29)	96(92-100)	99(97,5-100)	22

Les colonnes correspondent aux mêmes catégories que pour les tableaux n° XII à XVII .

Les résultats qui concernent ces 16 observations sont résumés dans les tableaux ~~XX-XXIV~~<sup>XXI-XXIV</sup>. Ils montrent que dans l'ensemble les résultats sont les mêmes que ceux que nous avons obtenus pour les lipides des frottis vaginaux.

Comme pour les frottis vaginaux, l'oestrus (3 observations) est caractérisé par la fréquence élevée des cellules à granulations (75 pour cent en moyenne ; 73 à 78 pour cent) et par la présence de cellules à grains très nombreux (10 pour cent) et nombreux (44 pour cent), en majorité petits (83 pour cent) uniformément répartis (74 pour cent) et non confluents (97 pour cent).

Au post-oestrus (4 observations), les cellules granulées sont assez nombreuses (41 pour cent en moyenne ; 33 à 50 pour cent). Les grains qu'elles renferment sont le plus souvent peu nombreux (30 pour cent en moyenne ; 24 à 33 pour cent), gros (82 pour cent en moyenne ; 64 à 93 p pour cent), inégalement répartis (74 pour cent en moyenne ; 56 à 85 pour cent) et confluents (77,5 pour cent en moyenne ; 71 à 93 pour cent).

Au di-oestrus (3 observations), le nombre des cellules granulées diminue (35 pour cent en moyenne ; 23 à 42 pour cent). Les grains sont le plus souvent peu nombreux (24 pour cent en moyenne ; 11,5 à 35 pour cent) presque aussi fréquemment gros (47 pour cent en moyenne ; 30 à 74 pour cent) que petits (53 pour cent en moyenne ; 26 à 70 pour cent) et répartis aussi bien de façon homogène (42 pour cent en moyenne ; 17 à 58 pour cent) qu'in-homogènes (58 pour cent en moyenne ; 42 à 83 pour cent). Ils sont par contre presque tous non confluents (96 pour cent en moyenne ; 92 à 100 pour cent).

Au pro-oestrus (4 observations), le nombre des cellules granuleuses augmente (54 pour cent en moyenne ; 47 à 67 pour cent). Les grains sont le plus souvent nombreux (31 pour cent en moyenne ; 24 à 39 pour cent), petits (76 pour cent en moyenne ; 59 à 93 pour cent, répartis de façon homogène (66 pour cent en moyenne ; 53 à 85 pour cent) et non confluents (99 pour cent en moyenne ; 97,5 à 100 pour cent).

En oestrus :

Au cours de la gestation (1 observation), 39 pour cent des cellules sont granuleuses. Les grains sont le plus souvent peu nombreux (30 pour cent). Ils sont petits (56 pour cent) ou gros (44 pour cent), répartis de façon inhomogène (78 pour cent) et confluents (78 pour cent), caractères très voisins de ceux du post-oestrus.

Les résultats de la détection des lipides sur l'urocytogramme montrent que les cellules trigonales du zébu ont la même sensibilité aux hormones génitales que celles de la femme et de la ratte.

Ils confirment les résultats obtenus dans cette espèce à partir des frottis vaginaux traités par la même méthode.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

Les techniques de prélèvements et de colorations que nous avons utilisées chez la femelle zébu, mettent en évidence certaines analogies avec les autres espèces mais aussi des différences propres à "Bos indicus". Nous nous proposons de les comparer ici aux résultats obtenus chez "Bos taurus" mammifère domestique zoologiquement le plus proche.

I - FROTTIS VAGINAUX COLORES PAR LES METHODES CLASSIQUES

Nous étudierons d'abord les phases du cycle normal du zébu dont nous comparerons les variations cytologiques à celles des taurins, pour traiter ensuite les frottis d'anoestrus, de gestation et de période pré-pubérale.

I - A - Frottis des différentes phases du cycle

I - A - 1 - Les types cellulaires et leurs affinités tinctoriales

Les types cellulaires que nous avons identifiés et leurs affinités tinctoriales diffèrent sensiblement de ceux qui ont été décrits chez les taurins.

I - A - 1 - a - Des nombreux travaux publiés chez "Bos taurus", ceux de PREVOST signalent la présence de cellules de la couche profonde sur les frottis. Nous

.../...

les avons identifiées aussi chez "Bos indicus". Elles sont du type parabasal  $C_2$  et toujours basophiles. Leur fréquence varie de 0 à 23 pour cent et atteignent leurs plus hauts niveaux dans les anoestrus avec réduction importante ou arrêt complet de l'activité folliculaire qui s'accompagnent d'un amincissement prononcé de l'épithélium vaginal.

I - A - 1 - b - Chez le zébu, nous avons montré aussi qu'avec la méthode d'ISAAC et WURCH, l'acidophilie des cellules desquamantes peut intéresser aussi bien la couche moyenne de l'épithélium que la couche superficielle. Chez les taurins, la même technique utilisée par PREVOST ne met en évidence que des cellules superficielles acidophiles.

I - A - 1 - c - Les cellules extra-vaginales (endométriales et endocervicales) sont fréquemment observées chez les taurins. Elles sont rares chez le zébu peut être en raison de la profondeur du fornix et de la grande longueur de la portion intra vaginale du col qui mettent à l'abri des sécrétions utérines le plafond du cul de sac crânial du vagin où nous avons effectué les prélèvements.

I - A - 1 - d - Les leucocytes, fréquents chez les taurins entre le 9<sup>e</sup> et le 16<sup>e</sup> jour qui suivent l'oestrus, ne peuvent pas être utilisés comme critère valable de diagnostic chez le zébu. Dans les sujets normaux, ils sont toujours peu nombreux et l'augmentation numérique que l'on observe dans la seconde moitié de la phase progestative du cycle est toujours trop faible pour être caractéristique. Chez le zébu en outre, de fréquentes infections vaginales perturbent les variations leucocytaires cycliques du contenu vaginal. La détection des phases du cycle chez le zébu ne peut donc reposer sur les

.../...

variations de ce type cellulaire.

1 - A - 2° Variations cellulaires en cours du cycle

1 - A - 2 - a - Variations des cellules basophiles

Selon PREVOST les cellules basophiles sont abondantes au moment des chaleurs de "Bos taurus" (50 à 80 pour cent) et sont surtout représentées par les types superficiels C<sub>5</sub>B et C<sub>6</sub>B. Chez "Bos indicus", leur fréquence est très faible (4 pour cent en moyenne) et aucun type cellulaire n'est nettement plus fréquent que les autres

. Toujours selon PREVOST, la fréquence des cellules basophiles varie peu pendant la phase progestative du cycle des taurins, mais les cellules de type intermédiaire deviennent les plus nombreuses et peuvent représenter jusqu'à 50 pour cent du contingent au di-oestrus. Chez "Bos indicus", le taux des cellules basophiles augmente au contraire nettement après les chaleurs. Il atteint en moyenne 33,25 pour cent au post-oestrus et 62 pour cent au di-oestrus. Les types intermédiaires C<sub>3</sub>B et C<sub>4</sub>B ne dominent nettement que pendant cette dernière phase où ils atteignent des fréquences comparables à celles qui sont signalées chez les taurins (51 pour cent en moyenne).

1 - A - 2 - b - Variation des cellules acidophiles

Les cellules acidophiles sont toujours plus rares chez les taurins que chez le zébu, même après coloration par la technique d'ISAAC-WURCH. Pour "Bos taurus" elles représentent à l'oestrus 20 à 50 pour cent du contingent cellulaire dont 1/3 environ de cellules kératinisées ; selon PREVOST leur taux baisse ensuite mais à partir du 8ème jour après l'oestrus. HEYERT signale leur pré-

.../...

sence sous la forme de placards kératinisés nombreux qui diminuent ensuite progressivement. Au 18<sup>e</sup> ou 19<sup>e</sup> jour, ils ont complètement disparu et les cellules acidophiles ne représentent plus que 10 à 25 pour cent de la population cellulaire.

Chez "Bos indicus", les cellules acidophiles sont beaucoup plus nombreuses à l'oestrus (96 pour cent). Leur fréquence baisse au cours du post-oestrus (66,75 pour cent) et atteint ses niveaux les plus bas au cours du di-oestrus. (38 pour cent en moyenne pour l'ensemble de la phase, mais des taux inférieurs à 10 pour cent ont été enregistrés pour certains individus et à certains moments).

Les cellules kératinisées (C<sub>6</sub>A) du zébu sont relativement nombreuses à l'oestrus (28,5 pour cent) et au début du post-oestrus. Elles diminuent ensuite et atteignent leurs taux les plus bas au di-oestrus (5 pour cent) pour s'accroître à nouveau au cours du pro-oestrus. Elles ne se présentent qu'exceptionnellement sous la forme des plages.

1 - A - 2 - c - Variations des cellules vacuolisé  
sées

La vacuolisation cellulaire est en particulier celle des cellules basophiles de la couche intermédiaire (C<sub>3</sub>B et C<sub>4</sub>B), a été considérée par JAWORSKI, comme un signe caractéristique de la phase progestative du cycle chez la ratte. Nous les avons rencontrées chez le zébu 8 fois sur 14 (57 pour cent des cas) au cours du post-oestrus, et 12 fois sur 14 (86 pour cent des cas) au di-oestrus ; alors que nous ne les avons détectées que 2 fois sur 13 au pro-oestrus (15 pour cent des cas) et jamais à l'oestrus. Sous réserve qu'elles peuvent aussi être présentes dans les frottis d'anoestrus (5 fois sur 13 soit

.../...



38 pour cent des cas), de gestation (2 fois sur 9 ; 22 pour cent des cas) et de période prépubérale (2 fois sur 7 ; 29 pour cent des cas), les cellules basophiles vacuolisées de la couche intermédiaire sont donc aussi chez le zébu un élément favorable au diagnostic de la phase progestative du cycle.

I - A - 3 - Essai de systématisation des variations cytologiques des frottis vaginaux du zébu

L'examen des tableaux suivants montre qu'à chaque phase et pour chaque type cellulaire, il existe des variations de fréquence si importantes que les interférences sont très nombreuses d'une phase du cycle à l'autre.

Pour analyser plus précisément ces interférences, nous avons dressé deux tableaux de répartition des frottis en fonction des quatre facteurs d'analyse qui nous paraissent les plus importants pour effectuer le diagnostic hormonal des phases du cycle chez la femelle zébu.

I - A - 3 - a - Le tableau n° XXVI donne la répartition des frottis en fonction des fréquences des cellules kératinisées ( $C_6A$ ) et des cellules basophiles et vacuolaires de la couche moyenne. ( $C_3B$  et  $C_4B$ ). Il montre que, mis à part l'oestrus où elles sont toujours absentes et à un moindre degré le pro-oestrus où elles ne sont jamais très fréquentes, les cellules basophiles vacuolaires peuvent se trouver en proportion quelconque au post-oestrus et au di-oestrus.

Les cellules kératinisées permettent aussi une certaine distinction des phases. Lorsque leur fréquence est inférieure à 5 pour cent, toutes les phases corres-

.../...

Tableau n° XXVI - REPARTITION DES FROTTIS EN FONCTION DES FREQUENCES DES CELLULES KERATINISEES (C<sub>6</sub>A)  
 ET DES CELLULES BASOPHILES VACUOLAIRES DE LA COUCHE MOYENNE (C<sub>3</sub>B ET C<sub>4</sub>B)

Cellules kératinisées Cellules basophiles vacuolaires	45-50	40-45	35-40	30-35	25-30	20-25	15-20	10-15	5-10	0-5	Code
++++	76P							64 D 74 D	102 P 103 D	114 D 112 D	O = OESTRUS
+++							69 R	101 P	100 P 115 D 112 D	108 D	P = Post-Oes D = Di-Oestr
++							49 R 70 D/P		107 D	105 D 106 D	R = Pro-Oest ++++ = très fr. quentes
+									99 P	104 D	+++ = fréque
0	82 P 78 R	81 O	85 R 63 R 71 R	80 P	116 R 62 P 67 R 111 P	61 R 66 P 56 R 110 R	109 R	98 O 68 R 117 P	97 R 59 D 55 D	113 D	++ = peu fré quentes + = rares

pondantes sont des di-oestrus.

Entre 5 et 20 pour cent, les frottis peuvent correspondre à n'importe quelle phase du cycle. Au-dessus de 20 pour cent, à toutes les phases sauf au di-oestrus.

I - A - 3 - b - Le tableau n° XXVII donne la répartition des frottis en fonction des fréquences des cellules acidophiles totales et des cellules superficielles C<sub>5</sub> et C<sub>6</sub>, A et B. (En ce qui concerne ces dernières les résultats seraient les mêmes avec les cellules intermédiaires dont les variations sont inverses). Il montre que les deux critères réunis permettent aussi une certaine détermination de la phase des cycle. Lorsque la fréquence des cellules superficielles est inférieure à 40 pour cent et que celle des cellules acidophiles est inférieure à 30 pour cent, tous les frottis correspondent à des di-oestrus. Lorsque la fréquence des cellules superficielles est comprise entre 40 et 70 pour cent et celle des cellules acidophiles entre 30 et 70 pour cent, les frottis correspondent à des di-oestrus et à des post-oestrus.

Lorsque la fréquence des cellules superficielles est supérieure à 70 pour cent et que celle des cellules acidophiles est supérieure à 70 pour cent, les frottis peuvent correspondre à n'importe quelle phase du cycle sauf au di-oestrus.

Dans cette catégorie l'oestrus correspond à un taux de cellules superficielles supérieure à 90 pour cent.

Résumées sous une autre forme, les indications des tableaux XXVI et XXVII correspondent aux critères de diagnostic suivants :

.../...



	Pro-oestrus	Oestrus	Post-Oestrus	Di-Oestrus
Pourcentage des cellules superficielles	70	90	40	70
Pourcentage des cellules acidophiles	70	60	30	70
Pourcentage des cellules kératinisées	5	10 à 45	5	20
Pourcentage des cellules intermédiaires vaginales	0 à +++ (fréquentes)	0	0 à ++++	0 à ++++

Chez la femelle zébu, les valeurs extrêmes prises par les critères que nous venons de retenir, permettent donc le diagnostic d'in di-oestrus à très faible taux de cellules kératinisées et celui de l'ensemble représenté par l'oestrus et les moments qui le précèdent ou le suivent

Dans tous les autres cas les interférences cytologiques entre phases nécessitent l'examen de plusieurs frottis successifs pour l'interprétation desquels l'existence d'anoestrus et d'images particulières de la gestation ou de la période pré-pubérale, doivent aussi être prise en considération.

### I - B - Frottis d'anoestrus

Les périodes de repos sexuel sont fréquents chez la femelle zébu pendant la saison sèche, mais elles

.../...

peuvent aussi apparaître en périodes les plus favorables de l'année (saison des pluies et post-hivernage).

Il convient donc d'envisager toujours leur existence lors de l'examen des frottis de diagnostic hormonal.

L'étude histologique a montré que ces anoestrus correspondent à deux aspects fonctionnels de l'ovaire.

I - B - 1 - Dans l'anoestrus avec persistance de l'activité folliculaire, les frottis peuvent être confondus le plus souvent avec ceux du pro-oestrus, de l'oestrus ou début du post-oestrus. Le taux des cellules superficielles est de 89,5 pour cent en moyenne. Il varie de 83 à 91,5 pour cent ; celui des cellules acidophiles est en moyenne de 90,5 pour cent, il varie de 62,5 à 96,6 pour cent ; celui des cellules kératinisées de 31 en moyenne et varie de 21 à 43 pour cent. Les cellules vacuolaires sont rarement présentes.

I - B - 2 Dans l'anoestrus avec activité folliculaire faible ou nulle, les frottis peuvent être souvent confondus avec le post-oestrus ou le di-oestrus. Les cellules superficielles représentent 59 pour cent du contingent en moyenne ; leur fréquence varie de 51,5 à 70 pour cent ; les cellules acidophiles représentent 59 pour cent de la population, elles varient de 50,5 à 65,5 pour cent ; les cellules kératinisées représentent 13 pour cent en moyenne ; elles varient de 9 à 17 pour cent.

I - B - 3 - Chez les taurins "frigides", MAZAN n'observe que des cellules de la couche intermédiaire, mais PREVOST signale le cas d'une vache dont les caractéristiques cytologiques correspondent selon nos critères à des cellules superficielles (65 pour cent) et à des cellules  
.../...

acidophiles toutes kératinisées (25 pour cent), plus proche de l'anoestrus avec activité folliculaire réduite que de l'autre type de repos sexuel.

#### I - C - Frottis de gestation

Au cours de la gestation, les frottis vaginaux de la femelle zébu sont caractérisés par l'importance du contingent des cellules superficielles. Elles représentent 93,5 pour cent de la population cellulaire ; et leur taux varie de 89 à 98 pour cent. Les cellules acidophiles représentent 90,5 pour cent de la population en moyenne, leur taux varie de 81 à 100 pour cent). Les cellules kératinisées représentent 21,5 pour cent, leur fréquence varie de 10 à 38 pour cent. Toutes ces valeurs sont comparables avec des moments du cycle proches de l'oestrus. La présence de cellules profondes de type  $C_2B$ , associées en chapelets ou en grappes ou encore en plages et celle des cellules intermédiaires de type  $C_3B$  qui se présentent sous la forme de cellules naviculaires, peuvent aider au diagnostic, ces formes particulières étant très rares au cours des autres états sexuels.

Ces cellules ou ces associations cellulaires particulières sont d'autant plus nombreuses que la gestation est plus avancée. Par ailleurs, les cellules naviculaires de gestation diffèrent de celles des autres états sexuels par leur taille et leur forme. Elles sont plus petites plus fusiformes et plus allongées.

#### I - D - Frottis de la période prépubérale

Les frottis de la période prépubérale peuvent aussi prêter confusion avec ceux d'un cycle normal. Les cellules superficielles sont au taux moyen de 76 pour cent (42 à 96,5 pour cent) ; les cellules acidophiles ont pour  
.../...

fréquence moyenne 70 pour cent (25 à 98 pour cent) et les cellules kératinisées 21,5 pour cent (2 à 46,5 pour cent). Ces variations et l'existence de chaleurs invisibles chez la femelle zébu, rendent possible la confusion entre les frottis de la période prépubérale et ceux de toutes les phases d'un cycle normal.

Dans l'ensemble, les frottis vaginaux colorés par les méthodes classiques sont donc d'interprétation difficile. Même après l'examen d'une série de frottis consécutifs, la phase d'un cycle normal peuvent être confondues, avec d'autres états sexuels que l'examen clinique n'identifie pas toujours facilement.

Cette raison nous a conduit à compléter ce travail par l'étude des frottis traités par les détecteurs histo-chimiques des lipides.

## II - DETECTION DES LIPIDES DANS LES FROTTIS VAGINAUX

La technique de coloration des frottis vaginaux par les détecteurs histo-chimiques des lipides n'a été utilisée jusqu'à présent que chez la femme et la ratte. Elle a donné dans les deux espèces des résultats identiques que nous allons comparer avec ceux que nous avons obtenus chez la femelle zébu.

1 - Dans les deux espèces déjà étudiées, les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'oil Red O. L'oestrus est caractérisé par le grand nombre (90 à 100 pour cent) des cellules porteuses de grains très nombreux (+++), d'un diamètre régulier (+), répartis de façon homologue (++) et non confluent (-)

.../...



Au post-oestrus, 10 à 20 pour cent des cellules sont pourvues de grains peu nombreux (+) d'un diamètre irrégulier (-), répartis irrégulièrement (+) et confluent (+).

Au di-oestrus, moins de 5 pour cent des cellules présentent des granulations rares (-), de diamètre irrégulier (-), et non confluent (-).

Au pro-oestrus enfin, 50 à 70 pour cent des cellules présentent des grains nombreux (+++), de diamètre régulier (-) et répartis de façon homogène (++) et non confluent (-).

2 - Chez la femelle zébu, l'oil red 0 a donné aussi les meilleurs résultats. Les différences entre phases du cycle sont moins marquées, mais le diagnostic reste possible.

a) A l'oestrus, au moins 75 pour cent des cellules sont en majorité porteuses de grains nombreux (N) ou très nombreux (TN), petits (régulier), non confluent (Non confl.) et répartis de façon variable (homogène, et non homogène).

b) Les grains sont en majorité nombreux (N) ou peu nombreux (PN), petits (régul.), répartis de façon variable et non confluent (Non confl.) pendant le premier cas, le nombre des cellules à granulations est plus élevé (43 pour cent en moyenne ; 24 à 63 pour cent) que dans le second (21 en moyenne 4 à 38 pour cent).

c) Le post-oestrus enfin est caractérisé par des grains volumineux (irrégulier), confluent (confl.) et répartis de façon inhomogène.

d) Au cours de l'anoestrus les frottis ressemblent à ceux du di-oestrus normal.

.../...

e) Au cours de la période prépubérale les frottis ressemblent à ceux du pro-oestrus.

Les résultats fournis par la détection des lipides intra-cytoplasmiques des frottis vaginaux du zébu sont donc beaucoup plus précis que ceux que nous avons obtenus avec les méthodes de coloration classique.

Ils peuvent encore être confondus avec les frottis prépubéraux (assez proches de ceux du pro-oestrus) ou avec les frottis d'anoestrus (voisins de ceux des di-oestrus) mais l'examen des frottis réalisés successivement à quelques jours d'intervalle est capable de lever le doute.

### III - DETECTION DES LIPIDES DANS L'UROCYTOGRAMME

Les bons résultats obtenus par la méthode de détection des lipides sur les frottis vaginaux nous ont conduit à rechercher une méthode de prélèvement plus facile sur un animal aussi agressif que le zébu.

Les prélèvements vaginal nécessite en effet le contrôle manuel de la région du fornix par voie transrectale et entraîne souvent des réactions brutales du sujet.

Les urocytogrammes par contre ne nécessitent qu'un sondage vésical beaucoup plus simple à réaliser.

Les résultats des prélèvements que nous avons exécutés correspondent en général à ceux des frottis vaginaux et sont même parfois plus faciles à interpréter.

A l'oestrus, 73 pour cent au moins des cellules sont porteuses de grains en majorité nombreux (N), petits (reg), non confluents (Non confl.) et répartis de façon homogène (Homog.).

.../...

Pendant les autres périodes, le nombre des cellules granulées est toujours inférieur à 67 pour cent. Les grains, au di-oestrus, sont en majorité peu nombreux (PN), presque aussi souvent gros (Irrg.) que petits (Rég.), répartis de façon variable et non confluents (Non confl.)

Au pro-oestrus, ils sont le plus souvent nombreux (N), non confluents (Non confl.) et plus souvent répartis de façon homogène (Homog.) que de manière irrégulière (Non homog.).

Au post-oestrus, les grains sont gros (Irrég.), irrégulièrement situés (Non homog), et confluents (confl.)

Au cours de l'anoestrus, les grains sont en majorité peu nombreux (PN), presque aussi souvent gros (Irrég.) que petits (Rég.) et répartis de façon variable (Non homog.) comme au di-oestrus, mais les grains sont en majorité confluents (confl.) alors qu'ils le sont rarement au di-oestrus.

Sur les frottis que nous avons étudiés, l'urocytogramme présente donc sur le prélèvement vaginal l'avantage de pouvoir permettre la distinction entre di-oestrus et anoestrus. La relative simplicité des prélèvements et celle de la technique de coloration, permettent donc d'envisager après confirmation de résultats, préliminaires, l'utilisation courante de l'urocytogramme pour le diagnostic hormonal des phases du cycle des espèces bovines.

C O N C L U S I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

1° Chez les femelles des mammifères, en dehors des périodes de gestation, l'activité génitale est caractérisée par un ensemble de phénomènes périodiques qui constituent le cycle oestral. Chaque cycle comprend plusieurs phases qui correspondent selon HEAPE au PRO-OESTRUS (phase de maturation folliculaire), à l'OESTRUS (phase d'ovulation), au POST-OESTRUS (phase du développement et d'état du corps jaune cyclique) et au DI-OESTRUS (phase d'involution du corps jaune).

Selon les espèces, l'ovulation peut être spontanée ou provoquée. Dans ce dernier cas, lorsque l'ovulation n'a pas lieu, la phase qui succède à l'oestrus est le METOESTRUS.

Les cycles se succèdent de manière ininterrompue dans les espèces à ACTIVITE SEXUELLE PERMANENTE.

§ 3. Dans les espèces à ACTIVITE SEXUELLE PERIODIQUE, l'année comprend des périodes d'activité et des périodes de repos sexuel.

Il peut y avoir une ou plusieurs périodes d'activité sexuelle dans l'année et chacune d'elles peut comporter un ou plusieurs cycles successifs. HEAPE a donné le nom d'ANOESTRUS aux phases de ce repos sexuel.

2° Le nombre et la variété des phénomènes qui caractérisent chaque phase du cycle et les mécanismes qui les déterminent, sont si nombreux et si complexes qu'une

.../...

grande quantité de méthodes ont été proposées pour diagnostiquer les différentes phases du cycle oestral.

Chez les mammifères, l'oestrus s'accompagne de modifications des organes génitaux externes et du comportement dont l'ensemble caractérise la phase dite des "chaleurs".

Dans certains cas, ces chaleurs sont si fugaces et si discrètes qu'elles passent inaperçues. Les éleveurs ont recours alors à un mâle rendu incapable d'effectuer le coït ou de féconder la femelle, tel le taureau ou l'étalon dits "boute-en-train"

Au niveau du tractus génital, le mucus de la cavité vaginale subit des modifications quantitatives et qualitatives particulièrement nettes dans certains espèces ; ces modifications sont utilisées à ce titre soit par simple observation, soit par évaluation du pH ou de la viscosité.

Les grandes fonctions de l'organisme subissent des modifications au cours du cycle oestral ; et celles de la courbe thermique en particulier, ont été parfois employées.

Pour identifier les différentes phases du cycle oestral, la méthode de choix est le diagnostic hormonal. Il peut être réalisé par des méthodes directes de dosage des gonadotrophines hypophysaires ou des hormones ovariennes dans le plasma sanguin ou dans l'urine.

Il peut aussi se pratiquer de manière indirecte par observation des modifications des épithélia génitaux sous l'action des hormones. C'est dans ce but que sont réalisés les biopsies de l'endomètre ou du vagin, les frottis vaginaux ou les urocytogrammes. Ces derniers reposent sur les analogies d'origine et de structure du trigone vésical et du vagin.

.../...

3° Chez "Bos taurus", l'activité sexuelle est de type continu malgré l'existence d'une certaine recrudescence au printemps et d'un ralentissement de l'activité génitale en hiver.

Dans cette espèce, les "chaleurs" sont habituellement très visibles. Le mucus est alors abondant, son pH. augmente, sa viscosité diminue et lorsqu'on le laisse sécher sur une lame, il se cristallise de façon particulière en formant des images dites "ptéridiennes" ou de "feuilles de fougère".

Lorsque les chaleurs sont discrètes ou que les animaux ne peuvent pas être observés fréquemment par l'homme les vaches en oestrus sont détectées par des taureaux boute-en-train qui ont subi une déviation du pénis, une vasectomie ou une épидidymectomie.

Le diagnostic hormonal est difficile à réaliser chez les taurins. Les hormones sont à des taux très faibles dans le sang ou l'urine et les variations quantitatives qu'elles présentent ne peuvent pas être détectées par les méthodes courantes. Pour les mettre en évidence, il faut avoir recours aux techniques radio-immunologiques plus sensibles et plus précises. Mais elles sont aussi plus onéreuses et nécessitent des précautions particulières de récolte, un matériel complexe et un personnel hautement qualifié.

C'est pour ces raisons que les méthodes indirectes sont utilisées et en particulier celles des frottis vaginaux colorés par les méthodes classiques de mise en évidence des affinités tinctoriales. Les techniques de coloration les plus efficaces sont celles de SHORR employées par HANSEL et coll. aux Etats-Unis d'Amérique et celle d'ISAAC et WURCH utilisées par PREVOST en France.

4° De nombreuses particularités anatomiques et fonctionnelles des organes génitaux de la femelle distinguent "Bos indicus" de "Bos taurus".

Par rapport à la vache de cette dernière espèce, la femelle zébu se caractérise par : une puberté tardive, des chaleurs très discrètes, souvent invisibles et parfois même anovulatoires. Elle se caractérise aussi par des corps jaunes cycliques dont la phase d'involution est très lente, par des corps jaunes de gestation qui peuvent être remplacés, suppléés ou disparaître complètement. Elle se caractérise enfin par une activité sexuelle de type périodique dont les phases d'activité de durée variable, sont séparées par des périodes de repos (anoestrus) plus ou moins longues.

Toutes ces particularités rendent très souhaitables la mise au point de méthodes capables de détecter les différentes phases du cycle et d'en étudier les perturbations.

Les centres d'élevage ont recours depuis plusieurs années à des taureaux boute-en-train. Nous avons essayé d'appliquer à cette espèce les méthodes indirectes de diagnostic hormonal, les dosages hormonaux se révélant tout aussi difficiles chez le zébu que chez les taurins.

L'étude a porté sur des frottis vaginaux colorés par les méthodes classiques d'affinités tinctoriales et par celles des détecteurs histochimiques des lipides. Elle a porté aussi sur des urocytogrammes traités par ces derniers réactifs.

5° Pour les frottis vaginaux colorés par les méthodes classiques de mise en évidence des affinités tinctoriales, les prélèvements ont été effectués, au coton cardé dans le cul de sac dorsal du fornix. La méthode de coloration d'ISAAC et WURCH a été retenue après des essais comparatifs et multiples.

.../...

a) Les types cellulaires que nous avons identifiés chez le zébu sont plus nombreux que ceux mis en évidence chez les taurins avec la même méthode par PREVOST. Selon ce dernier seules les cellules superficielles kératinisées ou non peuvent être acidophiles. Chez le zébu, l'acidophilie intéresse aussi les cellules de la couche moyenne de l'épithélium vaginal.

Peut être en raison du lieu d'élection que nous avons choisi et de la profondeur du fornx de "Bos indicus", les cellules endométriales et endocervicales sont rares dans cette espèce.

Les leucocytes, fréquents, au post-oestrus chez les taurins, sont toujours peu nombreux chez le zébu. Leurs variations cycliques sont faibles et en outre souvent faussées par des infections vaginales fréquentes. Les leucocytes n'ont donc pas été retenus comme critère de diagnostic dans notre travail.

b) Au cours du cycle oestral, les variations cellulaires ne sont pas les mêmes pour "Bos taurus" et pour "Bos indicus".

. Les cellules basophiles sont abondantes au moment des chaleurs chez "Bos taurus" (50 à 80 pour cent en moyenne) et proviennent en majorité de la couche intermédiaire. A la même phase du cycle, leur fréquence est très faible chez "Bos indicus" (4 pour cent en moyenne) et aucun type cellulaire n'est plus fréquent que les autres.

. Les cellules basophiles et vacuolaires de la couche intermédiaire sont fréquentes au cours de la phase progestative du cycle de la ratte. Elles n'ont pas été retenues comme critère de diagnostic chez les taurins ; mais

.../...



elles subissent des variations significatives chez le zébu

On les identifie de plus en plus souvent sur les frottis du post-oestrus (jusqu'à représenter 57 pour cent des cas). Au di-oestrus, elles sont presque toujours présentes (86 pour cent des cas). Sous réserve qu'on peut les trouver aussi dans les frottis de pro-oestrus (15 pour cent des cas), d'anoestrus (38 pour cent des cas), de gestation (22 pour cent des cas) et de période prépubérale (29 pour cent des cas), mais qu'elles sont toujours absentes à l'oestrus, les cellules basophiles vacuolaires de la couche intermédiaire peuvent contribuer à l'établissement d'un diagnostic de phase progestative du cycle.

Les cellules acidophiles sont toujours plus rares chez les taurins que chez le zébu. Chez ce dernier, elles sont très nombreuses à l'oestrus (96 pour cent). Leur fréquence baisse ensuite au cours du post-oestrus (66,75 pour cent). Elles atteignent leurs niveaux les plus bas au moment du di-oestrus (38 pour cent).

Les cellules kératinisées apparaissent chez les taurins 8 jours après l'oestrus. Ces cellules kératinisées diminuent ensuite et disparaissent vers le 18<sup>e</sup> ou le 19<sup>e</sup> jour.

Chez le zébu, les cellules kératinisées sont relativement nombreuses à l'oestrus (28,5 pour cent) et au début du post-oestrus. Elles diminuent ensuite et atteignent leurs taux les plus faibles au di-oestrus. Elles augmentent à nouveau au cours du pro-oestrus.

Dans l'ensemble nous avons retenu 4 critères de variations cellulaires pour les frottis vaginaux de la femelle zébu : la fréquence des cellules acidophiles, .../...

celle des cellules kératinisées, celle des cellules vacuolaires basophiles de la couche intermédiaire ; enfin la fréquence des cellules de la couche superficielle dont les variations sont inversement proportionnelles à celles de la couche intermédiaire.

Ces critères permettent d'identifier les frottis les plus caractéristiques de la période oestrale (fin du pro-oestrus, oestrus et début du post-oestrus) et ceux des di-oestrus les plus accusés. Mais ils ne permettent pas toujours une distinction nette entre post-oestrus et di-oestrus d'une part et entre di-oestrus et pro-oestrus d'autre part. L'examen successif de frottis réalisés à quelques jours d'intervalle peut apporter des renseignements complémentaires. Mais il laisse persister des confusions avec l'anoestrus, la gestation à son début et la période prépubérale.

c) Les périodes d'anoestrus de la femelle zébu peuvent laisser persister une certaine activité folliculaire de l'ovaire ou bien s'accompagner d'un repos ovarien plus ou moins complet.

Les frottis de l'anoestrus avec activité folliculaire conservée, peuvent être confondus avec ceux du pro-oestrus ou du début de post-oestrus. Les frottis de l'anoestrus avec activité folliculaire faible ou nulle ressemblent à ceux de la fin du post-oestrus ou de di-oestrus.

d) Les frottis vaginaux de gestation de la femelle zébu sont caractérisés par l'importance du contingent des cellules superficielles acidophiles et la présence de cellules kératinisées. Ils peuvent être confondus avec les phases du cycle proches de l'oestrus.

Pour ces femelles, on observe souvent des cellules basophiles profondes associées en chapelets, en plages ou

.../...

en grappes et des cellules naviculaires. Ces formes particulières peuvent aider à un diagnostic de la gestation.

e) Les frottis vaginaux de la période prépubérale sont très variables dans le temps. Ils peuvent être confondus avec la plupart des phases intermédiaires d'un cycle normal.

5) Conclusion

6) Pour les frottis vaginaux colorés par les méthodes de détection des lipides, l'oil Red O a donné les meilleurs résultats.

Au moment de l'oestrus, un très grand nombre de cellules du frottis renferment des granulations lipidiques petites, nombreuses ou très nombreuses et non confluentes.

Les frottis du di-oestrus et du pro-oestrus sont très voisins : grains plus ou moins nombreux, petits et non confluentes ; mais dans le premier cas, le nombre des cellules à granulations est moins élevé que dans le second.

Au post-oestrus les grains sont volumineux et confluentes.

Les frottis d'anoestrus ressemblent à ceux du di-oestrus et les frottis prépubéraux à ceux du pro-oestrus.

Scus réserve des confusions possibles avec les deux états sexuels précédents, les renseignements fournis par les frottis colorés à l'oil Red O sont donc plus précis que ceux qui sont donnés par les méthodes habituelles.

7° La coloration des étalements urinaux par la technique de l'oil Red O a donné des résultats identiques à ceux des frottis vaginaux.

.../...

Les deux techniques peuvent donc être utilisées indifféremment. La seconde présente sur la première l'avantage de prélèvements relativement plus faciles.

8° En résumé, les frottis vaginaux colorés par les méthodes classiques sont souvent d'interprétation difficile.

Ceux qui sont traités par les détecteurs histo-chimiques des lipides intracytoplasmiques, sont plus précis parce que plus caractéristiques des différentes phases du cycle oestral.

Ils sont aussi plus faciles à distinguer des anoestrus, de la période prépubérale et de la gestation par examens des frottis réalisés successivement à quelques jours d'intervalle.

L'urocytogramme enfin présente sur le frottis vaginal l'avantage de la relative simplicité du prélèvement. Il est donc justifié d'envisager, après confirmation de ces résultats, l'utilisation de l'urocytogramme pour le diagnostic hormonal des phases du cycle chez le zébu et éventuellement chez les taurins.

Dans les conditions particulières de l'Afrique, la méthode pourrait être utilisée dans les centres de recherches zootechniques où ses applications seraient nombreuses : recherches, diagnostic et détermination du moment favorable à l'insémination ou à la saillie.

A N N E X E I

METHODES DE COLORATIONS CLASSIQUES

COLORATION DE PAPANICOLAOU

- Plonger successivement dans alcools à 80°, 70° et à 50° puis dans l'eau distillée : 30 secondes dans chaque bain.
- Colorer dans l'hématoxyline de Harris : 3 à 6mn
- rincer à l'eau distillée
- plonger à six reprises dans une solution d'acide chlorhydrique à 0,25 %
- laver dans l'eau courante (6 mn) puis dans l'eau distillée 30 secondes
- colorer dans la solution d'orange G : 90 secondes
- plonger dans 2 bains successifs d'alcool à 95°, de 30 secondes chacun
- colorer dans le mélange polychrome "EA<sub>50</sub>" de PAPANICOLAOU 90 secondes
- plonger dans 3 bains successifs d'alcool à 95°, de 30 secondes chacun, puis dans l'alcool absolu
- passer dans un mélange xylène - alcool absolu (aa) puis dans le xylène et monter au baume ou dans une résine synthétique neutre.

FORMULES

- Orange G

- solution orange G à 0,5 % dans l'éthanol à 95° \_\_\_\_\_ 100 ml
- Acide phosphotungstique \_\_\_\_\_ 0,015 g

Mélange polychrome "EA<sub>50</sub>" de PAPANICOLAOU

Vert lumière jaunâtre	0,375 g
Brun bismark	0,4 g
Eosine jaune	2,5 g
Eau distillée	50 ml
Ethanol à 96°	609 g
Méthanol absolu	160 g
Solution d'acide phosphotungstique dans l'éthanol à 50° (1,7 g pour 5 ml)	5 ml
Solution saturée de carbonate de lithium	0,5 ml
Acide acétique glacial	1 ml

COLORATION DE SHORR

- Retirer les frottis du fixateur (alcool-éther) à parties égales) et les colorer dans la solution de SHORR "S<sub>3</sub>" 1 à 5 mn
- plonger à 10 reprises dans l'alcool à 70°
- Plonger à 10 reprises dans l'alcool à 95°
- plonger à 10 reprises dans l'alcool à 95°
- plonger à 10 reprises dans l'alcool absolu.
- passer dans le xylène 30 secondes .
- Monter au baume ou dans une résine synthétique neutre.

Formule de colorant "S<sub>3</sub>" de SHORR

Ethanol à 50°.	100 ml
Biebrich Scarlet	0,5 g
Orange G	0,25 g
Fast green FCF	0,075 g
Acide phosphotungstique	0,5 g
Acide phosphomolybdique	0,5 g
Acide acétique glacial	1 ml



COLORATION DE LICHTWITZ MODIFIÉE PAR THIERY

Procédés opératoires

- 1° Laver à l'eau ordinaire le frottis fixé à l'alcool à 95° pendant 1 mn
- 2° colorer 5 minutes dans les glychemalum stabilisé de Carazzi
- 3° rincer à l'eau ordinaire et égoutter
- 4° colorer dans une solution à 1 % de Biebrich dans l'alcool à 70°
- 5° rincer et égoutter à nouveau
- 6° colorer dans le colorant T. 283
- 7° rincer dans l'eau faiblement acétifiée. Montage au baume

Formule du colorant T 282

Vert azur IV	3 g
Rouge orange (Fn)	7 g
Acide phosphotungstique	45 g
Alcool à 90°	500 cc

COLORATION PAR LA METHODE DE MAGENDIE-CATOR ET MME J. BERNARD  
ET MME J. BERNARD

1° Fixation du frottis à sec dans l'alcool à 95° pendant 30'

2° Laver à l'eau

3° Plonger dans le glychémalum 3 à 4 mn

4° Laver à l'eau

5° Laver à l'alcool

6° Plonger dans le colorant R.C. 200 6 à 8 mn

7° Laver à l'alcool et sécher

COLORATION D'ISAAC et WURCH.

1 - Alcool à 95°	2 à 5 mn
2 - laver à l'eau du robinet	30 secondes
3 - eau distillée	1 à 2 mn
4 - hématoxyline de Harris	15 mn
5 - lavage rapide	
7 - carbonate de lithium à 2 %	30 secondes
8 - lavage	10 secondes
9 - eau distillée	1 mn
10 - colorant B	5 mn
11 - eau distillée	30 seconde
12 - mélange C2	10 mn
13 - rincer très vite	
14 - laver à l'eau de ville	
15 - différenciation à l'alcool à 95°	30 secondes
16 - alcool absolu ; toluène et montage au Beaume	

Formules :

Hématoxyline de Harris (Mélange A, d'Isaac et Wurch)

Dissoudre à chaud 20 gr d'alun k dans 200 ml d'eau distillée - laisser reposer 24 heures  
Ajouter 10 ml de la solution d'hématoxyline à 10 %  
puis 0,5 gr d'oxyde jaune (ou rouge) de mercure  
chauffer jusqu'à ébullition  
refroidir sous courant d'eau glacée  
laisser reposer 24 heures ; filtrer  
ajouter 4 cc d'acide acétique

Colorant B d'Isaac - Wurch

Ecarlate de Blebrich	0,65 gr
eau distillée	100 ml
Acide acétique	1 ml

Colorants C<sub>2</sub>

Orange G	2 gr
Vert sulfo	2 gr
Eau distillée	100 gr
Acide phosphomolybdique	2 gr

A N N E X E I I

METHODE PANOPTIQUE DE MAY GRUNWALD-GIEMSA

COLORATION PAR LE MAY GRUNWALD-GIEMSA

- 1 - May Grunwald 3 mn
- 2 - Eau distillée sur le May Grunwald 1 mn
- 3 - Giemsa dilué : 3 gouttes par 2 ml d'eau distillée 20 mn
- 4 - Laisser sécher

COLORATION PAR L'OIL RED O

(oil Red O dissous dans l'alcool isopropylique)

Procédés opératoires

- 1 - Frottis recueilli
- 2 - transférer dans l'alcool isopropylique à 60 % fraîchement préparé 1 mn
- 3 - colorer dans l'oil Red O fraîchement filtré 10 mn
- 4 - différencier rapidement (30 secondes) dans l'alcool isopropylique à 60 % fraîchement préparé
- 5 - laver à l'eau
- 6 - coloration nucléaire par l'hémalum 15 mn
- 7 - rincer à l'eau et monter au sirop d'Apathy

Formulaire

1 - Solution-mère

- oil Red O 0,5 g
- alcool isopropylique 100 ml à 98 %

2 - Solution de travail

- Diluer 6 ml de solution-mère dans 4 ml d'eau distillée
- Bien remuer - Attendre 1 h au moins et 24 h au plus avant usage
- Filtrer soigneusement juste avant l'emploi sur filtre what man n° 2

COLORATION PAR LE NOIR SOUDAN B

Noir Soudan B dissous dans le propylène glycol

Procédés opératoires

- 1 - Frottis recueilli dans l'eau distillée
- 2 - déshydrater dans le propylène glycol 3 à 5 mn
- 3 - colorer dans la solution de noir Soudan B 5 à 7 mn
- 4 - laver le frottis, en l'agitant par moment, dans une solution aqueuse à 85 % de propylène glycol 2 à 3 mn
- 5 - laver dans l'eau chaude 1 à 3 mn
- 6 - coloration nucléaire par le Kernechtrot (15 mn Rincer dans l'eau distillée)
- 7 - monter dans le glycérigel ou le sirop d'APATHY

Formulaires

1 - Noir Soudan B dans le propylène glycol

Histochimie II

- Dissoudre à chaud vers 100° (ne pas dépasser 110°) et en agitant constamment

- Noir Soudan B 0,7 g
- Propylène glycol 100 ml

- Filtrer à chaud sur filtre Whatmen n° 2. Après refroidissement, refiltrer sur fibres de verre sous vide

2 - Kernechtrot - nuclear Fast Red (Rouge nucléaire)

Histochimie II

Préparation

- Kernechtrot (ou Nuclear Fast red) 0,2 g
- sulfate d'aluminium 5 g
- eau distillée 100 ml

- Dissoudre en chauffant - Refroidir, filtrer, Ajouter un cristal de thymol
- conservation médiocre - Filtrer avant usage rejeter le colorant lorsqu'il commence à déposer

Temps de coloration : 5 à 15 mn selon l'âge du colorant.

Coloration au bleu BZL

- 1 - Traiter au bleu BZL (à saturation dans l'alcool à 60°
- 2 - rincer à l'eau de ville
- 3 - coloration du fond par la laque aluminique de rouge nucléaire solide au 1/5 dans l'eau distillée.... 5 à 15 mn.
- 4 - lavage à l'eau de ville
- 5 - monter avec un milieu miscible à l'eau (glycérine au sirop d'Apathy)

Coloration au bleu BZL - Pyridine

- 1 - Traiter pendant 1 heure à 60° avec la pyridine
- 2 - laver
- 3 - colorer comme ci-dessus

Coloration au sulfate bleu de Nil à 1 %

- 1 - Colorer 5 minutes à 60° avec la solution à 1 % de sulfate de bleu Nil.
- 2 - laver (à 60°)
- 3 - différencier à l'acide acétique (solution aqueuse à 1%)
- 4 - laver. Monter avec un milieu miscible à l'eau

D) Coloration au sulfate de bleu Nil à 0,02 %

Formule :

Bleu BZL à saturation

- Bleu BZL 0,3 gr

.../...

- alcool à 60° 100 ml
- filtrer et conserver dans un récipient clos

Laque aluminique de Rouge nucléaire solide

Dissoudre à chaud

- Eau distillée 100 ml
- Rouge nucléaire solide 0,1 gr
- Sulfate d'aluminium 5 gr
- Laisser reposer 24 heures et ajouter : 1 ml de formol
- conservation 2 à 3 mois.

Sirop d'Apathy

Mélanger et chauffer doucement en remuant

- gomme arabique 50 gr
- sucré de canne 50 gr
- eau distillée 50 ml

Ajouter 50 mg de thymol  
conserver en flacons bien bouchés

Coloration à l'A.P.S. en solution aqueuse

- a) - Collodionner
- b) - acide périodique à 0,5 ou 0,8 % 5 mn
- c) - laver 5 à 10 mn
- d) - réactif de Schiff 15 à 304
- e) - rincer dans 3 bains d'acide sulfureux fraîchement préparer
- f) - laver 2 à 5 mn à l'eau courante
- g) - coloration des noyaux : hémalum de Masson 5 mn
- h) - laver
- i) - carbonate de lithium à 2 % 30 sec
- j) - alcool - éther
- k) - alcool à 95° et absolu
- l) - kylène - montage au beaume



2 - Coloration à l'A.P.S. en solution alcoolique

Même en remplaçant au temps b) l'acide périodique en solution aqueuse par une solution alcoolique qu'on laisse agir 2 heures.

Formoles :

Réactif de Schiff :

Mélanger

Fuschine basique 1 gr

eau distillée bouillante 200 ml

Agiter puis laisser refroidir à 50°

filtrer - ajouter : Acide chlorhydrique 20 ml

laisser refroidir à 25°

ajouter métabisulfite de sodium (ou de potassium) 1 gr

Laisser reposer 24 h à l'obscurité et le flacon bien fermé

ajouter. : charbon active 2 gr

agiter - filtrer

conserver à l'obscurité en flacon brun, au réfrigérateur

se conserve plusieurs mois. Doit rester limpide

Bain d'acide sulfureux :

Solution aqueuse de bisulfite de sodium ou de métabisulfite de sodium ou de potassium)

à 10 % 10 ml

acide chlorhydrique 1N 10 ml

eau distillée 200 ml

doit être préparé extemporainement à partir des solutions mères

Hémalun de Masson

Porter à l'ébullition 3 mn

Hématéine 0,20 gr

.../...

Solution saturée (10 %) d'alun de potassium 100 ml  
refroidir et filtrer

Acide périodique en solution alcoolique

Acide périodique                    0,4 gr  
alcool éthylique à 90° 35 ml  
acétate de soude à 0,2 M 5 ml

B -

1 - Coloration au Bleu Alcian

- a) - Acide acétique à 3 % 2 mn
- b) - bleu alcian à 1 % dans acide acétique à 3 % (filtrer avant l'emploi) 30 mn
- c) - lavage à l'eau courante
- d) - carbonate de soude à 3 % 30 mn
- e) - lavage
- f) - coloration à l'hématoxyline de Harris                    5.
- g) - lavage
- h) alcool. Xylène. Montage

2 - Coloration au Permanganate - Bleu Alcian

- a) - Mélange permanganato-sulfurique 10 mn
- b) - acide oxalique à 2 % 2 mn
- c) - lavage à l'eau de ville
- d) - rinçage à l'eau distillée
- e) - bleu alcian en solution sulfurique 10 mn
- f) - lavage à l'eau de ville
- g) - rouge nucléaire solide en laque aluminique 8 mn
- h) - lavage
- i) - alcools - Xylènes - monter au beaume

Formules :

Mélange permanganato-sulfurique

Permanganate de potassium à 2,4 %	100 ml
acide sulfurique à 5 %	100 ml
eau distillée	700 ml

Bleu alcian en solution sulfurique

Bleu alcian	1 gr
acide sulfurique à 10 %	100 gr

Laque aluminique de rouge nucléaire solide

Voir page 132

Coloration à la gomme iodée

- a) - gomme iodée 15 mn
- b) - poser une lame et appuyer

Formules :

Gomme iodée

Faire dissoudre 50 gr de gomme arabique dans  
100 ml d'eau ajouter

Iode 1 gr  
Iodure de potassium 3 gr  
dissous dans un peu d'eau



BIOT (R.) et BELTRAN MUNEZ (R.)

Modificaciones periodicas del sedimento urinario con el ciclo menstrual, su posible aplicacion como test de ovulacion. - Semana Medica., 1944, 2, 532-35.

BOHL

La question du cycle sexuel de la jument et de la vache et l'examen microscopique du contenu vaginal.- Berl. Tier. Woche, 1933, 49, 81, 90.

BORREDON (Ch.)

Prélèvements vaginaux chez les femelles domestiques. - Thèse Doct. Vet. Toulouse, 1956, n° 12.

BROWN

Changement physiologique et histologique du vagin de la vache durant l'oestrus. - Am. Journ. Vet. Res., 1944, 15, 99.

BUR (G.E.)

Incrustaciones vaginales en la urefra feminina -Bio. Soc. Obst. et Ginec. (Buenos Aires), 1957, 36, 290.

CAVA (E.) et MAILLET (M.)

Action "oestrogénique" de la digitaline sur l'épithélium trigonal de la femme ménopausée.  
Bull. de l'Assoc. des Anat., 1974, 58, 813-822

CHIARASINI et MANGELLE-DICOUM (M.A.)

Modifications cycliques des lipides en cytologie vaginale chez la ratte pubère - Bull. de l'Assoc. des anat., 1974, 58, 823-31.

CHOU DHURY (G.), LUKTUKE (S.N.) and SHARMA (U.D.)

Studies on sexual maturity in Hariana heifers. - C.R. du Ve congress Intern. Anim. Fecond. Artif. Insem. Trento, 1964, 11, 507-16.

CUQ (P.)

Bases anatomiques et fonctionnelles de la reproduction chez le zébu. Rapport aux Villes Journées médicales DAKAR, 1973- Rev. Elev. Vet. Pays Tropic., 1973, 26, 21-48.

CUQ (P.), FERNEY et VAN CRAEYNEST (P.)

Le cycle génital de la femelle zébu (Bos indicus) en zone soudano-sahélienne du Sénégal. Rev. Med. Vet., 1974, 37, 147-73.

CUQ (P.)

Particularités du fonctionnement ovarien de la femelle zébu (Bos indicus) dans la zone soudano-sahélienne de l'Afrique tropicale de l'Ouest (communication aux 58e congrès de l'Assoc. des anatomistes de langue française. Liège 8.11 Avril 1974). Bull. de l'Assoc. des anat., 1975, 59, 139-44.

CUQ (P.) et AGBA (K.C.)

Les organes génitaux de la femelle zébu. Rev. Elev. Med. Vet. Pays tropic., 1975, 28, 331-403.

DALION (J.)

Planches d'histologie. Fascicule 1, Librairie Maloine S.A. Edit. Paris VI. (ouvrage non daté)-

DEL CASTILLO (E.B.), ARGONZ (J.) et GALLI MAININI (C.)

Cytological cycle of the urinary sediment and its parallelism with the vaginal cycle. J. of. Clin. Endocrinol., 1948, 8, 76-87.

DIAK (Ch.)

L'élevage en Mauritanie. Thèse de Doct. Vet.  
Paris, 1963, n° 63.

FERNEY (J.)

La courbe thermique au cours du cycle oestral. Cah. de  
Med. Vet., 1965, 24, 4, 2-3.

GALLI MAININI (C.), ABINZANO (C.) et AMBRAO (N.)

El extendo del sedimento urinario como medio diagnostico.  
La cellula cornificada anucleada. Los urocitogrammos  
"tipicos" y los "non tipicos". Semana Médica (Buenos Aires),  
1956, 108, 351-60.

GELLER (S.)

La courbe thermique. in "Guide du praticien en Endocrino-  
logie féminine", Masson ed., Paris, 1961.

GENOVA (R.), PALLUCHINI (F.) et RONDINI (G.)

Le modificazioni citologiche del sedimento urinario nella  
esplorazione funzionale d'ell' attivita estrogena. - Pedia-  
tria (Napoli) ; 1967, 75, 400-15.

HANSEL (W.), ASDEL (S.A.) et ROBERTS (V.S.)

The vaginal smear of the cow and causes of its variations.  
Am. Journ. Vet. Res. ; 1949, 10, 221.

HAOUR (P.)

Diagnostic cyto hormonal à partir de la cytologie urinaire  
ou urocytogramme. Feuilletts de Biologie ; 1971, 12, 49-62

HEAPE (W.)

The menstruation and ovulation of monkeys and the human female: Transact. Obst. Soc. , 1898, 40, 161.

HERRICK (S.B.)

The cytological changes of the cervical mucosa and the cow (*Bos taurus*) throughout the oestrous cycle. - Am. Journ. Vet. Res, 1951, 12, 276.

HEYERT (B.P.)

Diagnostic précoce de la gestation chez la vache par examen cytologique du mucus vaginal.  
Thèse Doct. Vet. Lyon 1951.

ISAAC (J.P.) et WURCH (Th.A.)

Une nouvelle technique de coloration différentielle des frottis vaginaux. - Rev. Franc. de Gyn. et Obst. ; 1952, 47, 275.

JAUKOWSKI

Examen microscopique du mucus vaginal dans les premiers jours de la gestation chez la vache. - Przegląd weterynary ; 1932, 45, 385.

JAWORSKI (Z.)

Aspect nucléaire et affinités tinctoriales cytoplasmiques des frottis vaginaux de la ratte. Etude comparative du cycle normal de la maturation sexuelle et du cycle artificiel chez l'animal castré - Ann. Endocrinol. ; 1950, 11, 361-88.

KING

Menstrual records and vaginal smears in a selected group of normal women. - Contrib. to Embryology, Carnegie Inst. Wash. , 1926, 18, 79.



LATASTE (F.)

Transformations périodiques de l'épithélium du vagin des rongeurs (rythme vaginal). C.R. Soc. Biol. ; 1892, 44, 756.

LEHMANN (F.)

Zur Frage der diagnostischen Verwertbarkeit des Scheidenabstriches. - Ein Beitrag zum Mikrobismus der Scheide. Zbl. f. Gynäk. ; 1921, 45, 647.

LENCIONI (L.J.)

Comparative and statistical study on vaginal and urinary sediment smears. - J. of Clin. Endocrinol. ; 1953, 13, 267-70.

LESBOUYRIES et WIKTOR

Diagnostic précoce de la gestation chez la jument par la méthode de Kurossava. Rec. Med. Vet. ; 1947, 123, (1), 5.

LICHTWITZ (A.) et FITOUSSI (M.)

Les frottis vaginaux et les autres méthodes d'exploration ovarienne. - Sem. des Hôpit. ; 1947, 23, 687-94.

MCCALLIN (P.F.), TAYLOR (E.S.) et WINTERHEAD (R.W.)

A study of the changes in the cytology of the urinary sediments during the menstrual cycle and pregnancy. - Am. Journ. of Obst. Gynec. ; 1950, 60, 64-73.

MAILLET (M.), ANTHONIOZ (Ph.) et BOUTON (Cl.)

Test cytologique d'ovulation par la mise en évidence des lipides dans les frottis vaginaux. - Rev. Cyto. Clin. ; 1972, 5, 4, 174-78.

MAILLET (M.), CHIARASINI (D.J.) et CAVA (E.)

Importance des squames cornées dans l'interprétation hormonale des urocytogrammes chez les femmes ménopausées. - Rev. Cyt. Clin. ; 1974, 7, 7-11.

MAILLET (M.), CHIARASINI (D.J.) et CAVA (E.)

Importancia de las celulas corneas anucleadas en la interpretacion hormonal de los urocitogramas en las mujeres menopausicas. - Pathologia ; 1975, 8, 81-84.

MARSAN (C.) et ALAVI (A.)

Possibilités et limites du cytodagnostic des voies urinaires. - Arch. Ana. Path. ; 1965, 13, 345-55.

MASIN (F.) et MASIN (M.)

Lipid patterns in cervical and vaginal cells under hormonal stimuli. - Acta cyto. ; 1964, 18, 263-69.

MAZAN (J.)

Diagnostic précoce de la gestation chez la vache par la méthode des frottis vaginaux. - Thèse Doct. Vet., Lyon, 1956.

METZGER et FREY

Die sexuel periodizität der vagina des rindes. Berl. Zier, Wochen, 1926, 39, 645.

MOSER (E.)

Untersuchungen über Zyklische veränderungen der cytologischen Bestandteile des vaginalsekretes beim Menschen-Zschr. f. Geburstsh.u. Gynäk., 1928, 18, 3.

MURPHEY (H.S.)

Etudes sur l'oestrus et le cycle génital chez la vache. -  
J. Am. Vet. Ass. ; 1924, 65, 598.

PAGOT (J.)

Les zébus de l'Azawak (Niger). Bull. Serv. Zoo. et Epizoo.  
A.O.F., 1943.

PAGOT (J.)

Production laitière en zone tropicale. Faits d'expérience  
en A.O.F. Rev. El. Med. Vet. Pays tropicaux, 1951-1952, 5,  
1973-190.

PAPANICOLAOU (G.N.)

Diagnostic of early pregnancy by the vaginal smear method.-  
Proc. Soc. Exp. Biol. et Med., 1925, 22, 436.

PAPANICOLAOU (G.N.)

The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal  
smears. - Am. J. Anat. ; 1933, 52, 519.

PAPANICOLAOU (G.N.)

A general survey of the vaginal smear and its use in  
research and diagnosis. Am. J. Obst. and. Gyn. ; 1946, 51  
326.

PAPANICOLAOU (G.N.) et SHORR (E.)

Action of ovarian follicle hormone in ovarian insufficiency  
in women as indicated by vaginal smears - Proc. Soc. exp.  
Biol. and Med. ; 1935, 32, 585.

PELLEQUER (Colette) née BEUX

Contribution à l'étude de la cytologie vaginale chez la  
chienne. - Thèse Doct. Vet. Lyon, 1971.

PEREZ-Y-PEREZ (F.)

Fisiopatologia de la Reproduccion Animal.  
Liberia Edit. Cientif. Med., Madrid, 1960.

PLASSE (D.), WARNICK (A.C.) and KOGER (M.)

Age at sexual maturity and dependance of ovulation rate  
on season of Brahman and crossbred heifers in Florida. -  
Zentbl. Tier. Zücht. Biol. ; 1965, 81, 231-240.

POLLOSSON (M.E.) et HAOUR (P.)

Le diagnostic cyto hormonal à partir du sédiment urinaire  
(urocytogramme). Rev. Fr. de Gynéc. et d'Obst., 1962, 57,  
419-36.

POUCHET (F.A.)

Théorie positive de l'ovulation spontanée et de la féconda-  
tion des mammifères et de l'espèce humaine, basée sur  
l'observation de toute la série animale. J.B. Baillière  
ed., Paris 1847.

PREVOST (A.)

Le frottis vaginal chez la vache au cours du cycle normal.  
Thèse Doct. Vet. Lyon, 1957.

PUNDEL (J.P.)

Frottis vaginaux et cervicaux chez la femme,  
Masson et cie, Edit., Paris 1950.

PUNDEL (J.P.)

Acquisitions récentes en cytologie vaginale hormonale. ,  
Masson et Cie, Edit., Paris. 1957.

RAKHA (A.M.), HALE (D.) and IGBOELI (G.)

The age of puberty in local breeds of cattle in central Africa. - J. Reprod. Fert., 1970, 22, 360-69.

RAYNAUD (A.)

Modifications apportées dans la structure de la vessie et de l'urètre du chat par des injections de dihydrofolliculine. C.R. Soc. Biol.; 1937, 126, 215-18.

RETTNER (de, E.)

Sur la morphologie et l'évolution de l'épithélium du vagin des mammifères - C.R. Soc. Biol., 1892, 44, 101.

ROLLINSON (D.H.L.)

Oestrus in zébu cattle in Uganda. Nature, 1955, 176, 352-53.

ROMMEL (W.) et ROMMEL (P.)

Vergleichende experimentelle Untersuchungen zur komplexen Darstellung verschiedener Funktionszustände an genitale des Rindes während individueller. - Brunstzyklen Zuchtshygiene, 1960, 4, 376.

SANGER (V.L.), ENGLE (P.H.) et BELL (D.S.)

Cytologie vaginale de la brebis. Le cycle. - Am. J. Vet. Res. ; 1958, 19, 282.

SHARMA (O.P.), TOMAR (N.S.) and SINGH (B.P.)

Age and weight at puberty in Haryana heifers. - Ind. J. dairy Sci. ; 1968, 21, 133-36.

STOCKARD (C.R.) et PAPANICOLAOU (G.N.)

The existence of a typical oestrous cycle in the guinea pig with a study of its histological and physiological changes. - Am. Journ. Anat., 1917, 22, 225.

SULLIVAN (J.P.)

Studies on the progesterone metabolism in normal dairy cows. - Dissert. Abstracts (U.S.A.) ; 1961, 21, 1984.

THIERY (G.)

Le frottis vaginal chez quelques femelles domestiques. - Rec. Med. Vet., 1953, 129, 941.

TINKLEPAUGH (O.L.) et VAN CAMPENHOUT (G.)

The vaginal cell content of the mature and immature chimpanzee. - Anato. Record. ; 1931, 48, 309.

VAN DYKE (H.B.) et CHEN (G.)

The distribution of lipoids in the genital tract of the monkey at different stages of the menstrual cycle. - Am. J. of Anat. ; 1940, 66, 411-23.

VAN HERWERDEN (M.)

Beitrag zur kennetnis des menstruellen cyklus. - Mschr. f. Geb. u. Gynäk ; 1906, 24, 730.

---

TABLE DES MATIERES

Pages.

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : Le cycle oestral et les méthodes de diagnostic de ses phases	3
CHAPITRE PREMIER : Le cycle oestral .....	5
CHAPITRE II : Méthodes de diagnostic des phases du cycle oestral .....	14
<u>DEUXIEME PARTIE</u> : Diagnostic des phases du cycle oestral chez Bos taurus .....	31
CHAPITRE PREMIER : Modification du comportement et de l'appareil génital .....	33
CHAPITRE II : Le taureau - boute - en - train ...	33
CHAPITRE III : La courbe thermique .....	35
CHAPITRE IV : La biopsie de l'endomètre ou du vagin	35
CHAPITRE V : Etude du mucus .....	36
CHAPITRE VI : Diagnostic des phases du cycle oestral par dosage hormonal.....	40
CHAPITRE VII : Les frottis vaginaux .....	41
<u>TROISIEME PARTIE</u> : Recherches personnelles .....	58
CHAPITRE PREMIER : Caractéristiques anatomiques et fonctionnelles de l'appareil génital de la femelle zébu.	59
CHAPITRE II : Matériel et méthodes .....	69
CHAPITRE III : Résultats .....	77
CHAPITRE IV : Discussion .....	99
<u>CONCLUSION</u> .....	112

../..

<u>ANNEXE I</u> :	Méthodes de colorations classiques.....	121
ANNEXE II :	Méthode panoptique de May Grunwald - Giensa .....	128
ANNEXE III :	Méthodes de colorations histochimiques.	129
BIOGRAPHIE :	.....	137



Vu :  
LE DIRECTEUR  
de l'Ecole Inter-Etats des  
Sciences et Médecine Vétérinaires

LE PROFESSEUR RESPONSABLE  
de l'Ecole Inter-Etats des Sciences  
et Médecine Vétérinaires

Vu :  
LE DOYEN  
de la Faculté de Médecine  
et de Pharmacie

LE PRESIDENT DE LA THESE

Vu et permis d'imprimer .....

DAKAR, le .....

LE RECTEUR, PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE  
DE L'UNIVERSITE.