الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة1

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie des Organismes

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2

En : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

Contribution à l'étude anatomique, histologique et histochimique de l'ovaire de la gerboise déserticole *(Jaculus jaculus)*

Présenté le 15/07/2018 par :

Mlle HAMDANI Karima

Devant le Jury :

M. BENDJOUDI D.	***MCA***	***S.N.V. Blida-1***	***Président***
Mlle. ZATRA Y.	***MAA***	***S.N.V. Blida-1***	***Examinatrice***
Mme. DJAZOULI ALIM F.Z	***MCA***	***S.N.V. Blida-1***	***Promotrice***
Mme. ZIDANI A.	***Doctorante***	***E.N.S. Kouba***	***Co-Promotrice***

Promotion 2017/2018

DEDICACES

J'adresse en premier lieu ma reconnaissance à Mon Dieu♥tout puissant, de me donner la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

Je dédie cet humble travail à :

Mes très chers Parents♥qui sont toujours dans mon cœur, la plus belle créature que Dieu a crée sur terre…la prunelle de mes yeux, la fleur et l'amour de ma vie, ma source d'inspiration Ma Mère ♥; je t'aime très fort.

Mes Sœurs♥et Mon Frère♥je leurs souhaite une bonne vie pleine de joie et bonne heures pleine de santé, Dieu les protège.

Mes Grands-Parents, Mes Cousins, Mes Cousines…♥sans eux je ne serais pas là ou je suis aujourd'hui, qui ont suivi avec attention et un grand intérêt mon parcours, qui m'ont donné le courage, le soutient et l'amour. Mes chère Tante ; ainsi que leurs Enfants et Toute Ma Famille♥, dont le sacrifice et le dévouement furent pour moi un constant encouragement.

Ma Promotrice♥et Ma Co-promotrice♥, aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous.

Tous Mes Enseignants♥de puis l'école primaire jusqu'à L'université, qu'ils trouvent ici le meilleur témoignage de mon amour et profonde reconnaissance.

Mes chères Amies♥et Mes chers Collègues.

Je dédie particulièrement ce mémoire à Malaki♥A…et à Moi-même♥K.

A tout qui M'aime♥et que J'aime.

A vous♥qui prenez la peine de lire ce mémoire.

Karima

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Bon Dieu, notre créateur de nous avoir donné les forces et la volonté, le courage et la patience afin d'accomplir ce travail, El hamdo li Allah…

Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens d'abord à remercier sincèrement Madame DJAZOULI ALIM F.Z. ma promotrice pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve. Son encadrement, ses critiques constructives, ses précieux conseils mais ont été d'une aide précieuse. Je tiens à m'exprimer ma reconnaissance envers elle qui a eu la gentillesse de lire et corriger ce travail et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Mes remerciements s'adressent également à Madame ZIDANI A. ma Co promotrice pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, la guidance que vous m'avez apporté durant cette année, ainsi que pour vos précieux conseils, vos encouragements et votre disponibilité.

Je souhaite aussi remercier l'honorable jury qui a consenti à juger ce travail. Mes remerciements vont à Mme BENAZOUZE F. /M BENJOUDI D. à pour me avoir fait l'honneur de présider le jury ainsi qu'au Mme ZATRA Y. à avoir accepté d'examiner ce travail Je leurs témoignons ma profonde considération.

Mes vifs remerciements s'adressent au Monsieur DJAZOULI Z.E. pour m'avoir mis à ma disposition son laboratoire, pour son aide, ses conseils et sa disponibilité.

Un grand merci au Madame BOUKENAOUI N pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, pour ces conseils et son aide précieuse.

Ma profonde gratitude et mes plus sincères remerciements vont également à toute l'équipe du service d'anatomie pathologique à l'hôpital de FARES YAHIA de Kolea-Tipaza, de me avoir fait l'honneur de m'accueillir et diriger au sein de son service et de me avoir assuré les meilleures conditions pour la réalisation des techniques histologiques et immunhistochimiques de ce mémoire. Les médecines d'anatomopathologie ; Dr AKLIL, Dr BOUZIDI, Dr CHAIB, Dr BOUDOUR… et toute l'équipe de laboratoire ; Mme BENDERRADJI L., Mme BELAHOUIAN M., Mme LAMROUSSI M., Mme BOUDIS, Mme CHAMA F., Mlle HADOUCHE M. et Mme NASSIRA, Mlle CHAHRA, Mlle IMENE…Merci pour votre disponibilité, vos conseils, votre aide et pour vos qualités humaines.

Je remercie aussi tous les membres de service des laboratoires Monsieur le responsable des laboratoires ; M BOUNAKHLA et tout l'équipe ; M YOUSSEF, Mme

SABAH…pour tout l'aide et la mise à notre disposition les réactifs et les produits de laboratoire, sans oublier ses gentillesses, ses conseils.

Je tiens à remercier vivement les ingénieures des laboratoires ; Mme NADJIA, Mme YAMINA, Mme KARIMA, M ABDERRAHMANE pour tout l'aide et l'orientation que vous m'avez apporté durant cette année, ainsi que pour vos encouragements.

J'adresse un grand merci à l'ensemble des enseignants de la Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, spécialement les enseignants de la spécialité de biologie et physiologie de la reproduction. Je remercie tous ceux que je n'ai pu citer, ils ont été nombreux à m'aider toutes ces années, par leur expérience, leurs conseils et leur générosité.

J'exprime aussi ma gratitude à mes parents BOUAEM et chère NADIA, mes sœurs LINDA, NESSRINE et mon frère ABDERAZZAK, mes grands-parents spécialement SALAH, mes cousines ; DJAMILA, MALIKA, FATIHA, mes cousins spécialement SMAIL, mes tantes ; HASSIBA, AMINA, HABIBA et à toute ma famille petits et grands. Si petit qui 'elle soit, mais grande dans mon cœur, avec mes sincères sentiments d'estime et de respect. Je vous dis merci.

Je remercie mes chères amies et mes collègues d'étude de loin ou de proche, spécialement H. SOUMIA, S. HOURIA, Z. ASMAA, A. KARIMA, B. RANIA, AICHA et BOUTHAINA… pour leur support et pour les moments inoubliables qu'on a passés.

J'adresse mes profonds remerciements à MALAKI A. Merci d'être là !

Un dernier merci pour tous ceux que j'ai oublié.



SOMMAIRE

Titre **Pages**

Dédicaces

Remerciements

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Résumés

Introduction…… **01**

CHAPITRE I : DONNES BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Anatomie et physiologie de l'appareil génital femelle…….. **04**
I.2. Anatomie et histologie de l'ovaire…… **06**
I.2.I. Anatomie macroscopique……... **06**
I.2.2. Anatomie microscopique……... **07**
I.3. Physiologie de l'ovaire…….. **08**
I.4. Embryologie ovarienne…… **08**
I.5. Gamétogenèse……... **08**
I.5.1. Ovogenèse…….. **09**
I.5.2. Folliculogenèse……... **09**
I.5.2.1. Phase de croissance folliculaire…… **10**
a. Follicule primordial…… **10**
b. Follicule primaire……... **10**
c. Follicule secondaire…….. **10**
d. Follicule préantral…… **11**
e. Follicule à antrum…… **11**
I.5.2.2. Vague folliculaire…… **11**
I.6. Cycle oestral…….... **12**

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel non biologique…… **15**
II.2. Matériel biologique…… **15**
II.2.1. Classification…….. **15**

II.2.2. Biologie de l'animal…… **15**
II.2.3. Répartition géographique…… **16**
II.2.4. Comportement…… **17**
II.2.5. Reproduction…… **17**
II.3. Protocol expérimental…… **17**
II.3.1. Capture et élevage des animaux…… **17**
II.3.2. Sacrifice et prélèvement des organes…… **18**
II.3.3. Méthodes d'études…… **19**
II.3.3.1. Techniques Histologiques…… **19**
II.3.3.1.1. Fixation…… **19**
II.3.3.1.2. La circulation…… **20**
a. Post-Fixation…… **21**
b. Déshydratation…… **21**
c. Eclaircissement…… **21**
d. Imprégnation à la paraffine…… **21**
II.3.3.1.3. Inclusion et confection du bloc de paraffine…… **22**
II.3.3.1.4. Confection des coupes…… **23**
II.3.3.1.5. Préparation de lames gélatinées…… **23**
II.3.3.1.6. Étalement des coupes…… **23**
II.3.3.1.7. Coloration…… **24**
II.3.3.1.7.1. Coloration d'hématoxyline éosine HE…… **24**
a. Déparaffinage…… **24**
b. Réhydratation…… **25**
c. Colorations, déshydratation et éclaircissement des coupes.. **25**
d. Montage…… **25**
II.3.3.1.7.2. Coloration de Trichrome de Masson…… **26**
II.3.3.2. Techniques d'immunohistochimie…… **27**
II.3.3.2.1. Etapes de la réaction immuno-histochimique…… **29**
II.3.3.2.1.1. Prétraitement de tissu…… **29**
a. Déparaffinage et réhydratation des coupes…… **29**
b. Démasquage antigénique…… **30**
II.3.3.2.1.2. Immuno-marquage…… **31**
a. Blocage des peroxydases endogènes…… **31**
b. Application de l'anticorps primaire…… **32**
c. Amplification…… **32**
d. Révélation du complexe avec un chromogène…… **32**
e. Contre coloration à l'Hématoxyline de Meyer…… **33**
f. Montage des coupes…… **33**
II.3.3.3. Etude morpho métrique…… **34**

II.3.4. Observation Microscopique et acquisition des images…… **34**
II.3.5. Analyse microscopique et acquisition d'image…….. **34**

CHAPITRE III : RESULTATS

I. Organisation générale de l'ovaire de la gerboise déserticole…… **35**
II. Micro-anatomie de l'ovaire et des structures adjacentes. **37**
II.1. Micro-anatomie du parenchyme ovarien…… **37**
II.2. Microanatomie des structures adjacentes à l'ovaire……... **39**
III. Follicules ovariens et distribution parenchymateuse…… **42**
IV. Aspect fonctionnel de l'ovaire de la gerboise déserticole **44**
IV.1. Aspect histologiques des follicules……... **44**
IV.2. Morphométries des follicules…….. **44**
IV.3. Mise en évidence de l'activité ovarienne par immuno-marquage des œstrogènes……..... **47**

CHAPITRE IV : DISCUSSION

I. Anatomie et histologie de l'ovaire de la gerboise déserticole…… **49**
II. Morphométries des follicules…… **52**
III. Immuno-marquage des œstrogènes……... **53**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES…… **55**

Références Bibliographiques…….. **58**

Annexe

LISTE DES ABREVIATIONS

Ov	Ovaire
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
cr	Corticale
Ep	Epithélium
f	Follicule
Fn	Franges
H	Heure
md	Médullaire
Min	Minutes
Ovi	Oviducte
PBS	Phosphate-buffered saline
Sec	Secondes
t.a	Tissu adipeux
Vg	Vagin
µL	Microlitre (10-6 L)
E2	Œstrogène
µm	Micromètre
FSH	Hormone folliculo-stimulante
LH	Hormone lutéinisante
CJ	Corps jaune
HE	Hématoxyline éosine
PAF	Para formaldéhyde
TP	Tampon phosphate
L	Litre
DAB	3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride.
H_2H_2	Peroxyde block (eau oxygénée)

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1 :	Vue ventrale de l'appareil génital du hamster doré femelle ***(Popesko et all ,1992)***	5
Figure 2 :	Utérus duplex	6
Figure 3 :	Utérus bipartitis	6
Figure 4 :	Utérus bicornis	6
Figure 5 :	Utérus simplex	6
Figure 6 :	Anatomie comparée du tractus génital femelle	6
Figure 7 :	Schéma d'un ovaire montrant le développement et la destinée des follicules ovariens ***(Peters et Ball,1995)***	7
Figure 8 :	Développement ovocytaire	9
Figure 9 :	Développement folliculaire	9
Figure 10 :	Déférant stades du Gamétogenèse chez la femelle	9
Figure 11 :	Vague folliculaire ***(Webb et all., 2004)***	12
Figure 12 :	Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle oestral ***(picard-Hagen et al ., 1997)***	13
Figure 13 :	Coupe d'ovaire de ratte vue à faible grossissement (Gx8).Nombreux coros junes (CJ) faisant saillit sur la corticale ***(Vaissaire, 1977)***	14
Figure 14 :	Durée des différentes phases du cycle sexuel chez la ratte ***(Vaissaire, 1977)***	14
Figure 15 :	Durées du cycle sexuel de la souris ***(Rugh, 1968* et Vaissaire, 1977°)***	14
Figure 16 :	*Petite gerboise d'Égypte* ***(Originale)***	15
Figure 17 :	Répartition géographique de la gerboise déserticole ***(INCN)***	16
Figure 18 :	*Région de Still ou Stile, Wilaya d'El Oued en Algérie* ***(Google Map)***	17
Figure 19 :	*Petites gerboises d'Égypte en captivité* ***(Originales)***	18
Figure 20 :	*Gerboise sous anesthésie* ***(Originale)***	19
Figure 21 :	La fixation des ovaires dans le PAF à 4%(***originale)***	20
Figure 22 :	L'Automate de la cerculation leica ***(Originale)***	20
Figure 23 :	Technique d'enrobage ***(originale)***	22
Figure 24 :	Batterie de la coloration de Trichrome de Masson ***(originale)***	26
Figure 25 :	Principe de la technique immuno-histochimique	28

Figure 26 : Le marquage direct et le marquage indirect…….. **29**

Figure 27 : Batterie de déparaffinage et réhydratation des coupes pour l'immunohistochimie ***(originale)*……..... **30**

Figure 28 : Technique de démasquage antigénique ***(originale)*……. **31**

Figure 29 : Technique de blocages des antigénique ***(originale)*…… **31**

Figure 30 : Technique de révélation du complexe avec un chromogène ***(originale)*…… **33**

Figure 31 : Batterie et technique du montage ***(originale)*…… **34**

Figure 32 : Anatomie de l'appareil génitale femelle de la gerboise déserticole ***(originale)*…… **36**

Figure 33 : Structure générale des ovaires de la gerboise déserticole ***(originale)*…… **38**

Figure 34 : Points de contact de l'ovaire avec le tractus génitale femelle de la gerboise déserticole ***(originale)*……. **40**

Figure 35 : Microstructure de l'ovaire et les régions adjacentes du tractus génitale femelle de la gerboise déserticole ***(originale)*…… **41**

Figure 36 : Répartition des follicules dans le parenchyme ovarien de la gerboise déserticole ***(originale)*……..... **43**

Figure 37 : Différentes populations de follicules retrouvées dans l'ovaire de la gerboise déserticole ***(originale)*…….. **45**

Figure 38 : Groupes de follicules en fonction du diamètre ***(originale)*…… **46**

Figure 39 : Immuno-marquage de l'œstrogène au niveau des ovaires de la gerboise déserticole ***(originale)*…….... **48**

RÉSUMÉ

Contribution à l'étude anatomique, histologique et histochimique de l'ovaire de la gerboise déserticole *(Jaculus jaculus)*

Chez les espèces déserticoles, la reproduction saisonnière pendant les périodes les plus favorables de l'année assure la survie de la progéniture et maximise le potentiel reproducteur.

L'objectif majeur de notre travail est d'étudié la structure et l'activité ovarienne chez la gerboise déserticole Jaculus jaculus pour la premiére fois. Pour cela neuf gerboises femelles adultes ont été utilisées. Après sacrifice par décapitation, les ovaires sont prélevés et fixés au PAF à 4% ; pour l'étude histologique structurale, et immunohistochimique des récepteurs aux oestrogènes, et même pour l'étude morphométrique des follicules ovariennes.

Les résultats ont montré que l'étude histologique a révélé la présence de fentes dans la partie médiane de l'ovaire ainsi que des follicules qui peuplent l'ovaire avec une distribution homogène; des follicules primordiaux ayant des tailles rapprochées, et parfois hétérogène ayant des tailles très différentes. L'étude morphométrique montre la présence des populations de follicules dans des stades de maturation différents. Elles ont été divisées en trois groupes selon le diamètre : les jeunes follicules ayant : 2.44±0.36 µm de diamètre, les moyennement mature atteint : 8.57±0.37 µm de diamètre et les follicules matures dont le diamètre est de : 13,37±0,50 µm. Les résultats immunohistochimiques indiquent une immuno-réaction positive d'œstrogène, le marquage a été retrouvé au niveau de la partie interne du follicule antral et au niveau de la partie extérieure de la théque folliculaire. Les résultats obtenus montrent que l'ovaire de la gerboise est en plein activité reproductrice.

Mots clé : *Gerboise déserticole, ovaire, follicules, histologie, morphométriqe, immuno-réaction, œstrogène.*

ABSTRACT

Contribution to the anatomical, histological and histochemical study of the ovary of the desert jerboa (Jaculus jaculus)

In desert species, seasonal breeding during the most favorable times of the year ensures survival of offspring and maximizes reproductive potential.

The main objective of our work is to study the structure and ovarian activity of the desert jerboa Jaculus jaculus for the first time. For this, nine adult female jerboa were used. After sacrifice by decapitation, the ovaries are removed and fixed at 4% PAF; for histological structural, and immunohistochemical study of estrogen receptors, and even for the morphometric study of ovarian follicles.

The results showed that the histological study revealed the presence of cleft in the middle part of the ovary as well as follicles populating the ovary with a homogeneous distribution of primordial follicles having closely spaced, and sometimes-heterogeneous sizes having very large sizes different. The morphometric study shows the presence of follicle populations in different stages of maturation. They were divided into three groups according to the diameter: the young follicles having 2.44± 0.36 µm in diameter, the moderately mature reached 8.57±0.37 µm in diameter and the mature follicles whose diameter is 13.37±0, 50 µm. The immunohistochemical results indicate a positive estrogen immuno-reaction, the marking was found at the level of the internal part of the antral follicle and at the level of the outer part of the follicular tea. The results show that the ovary of the jerboa is in full reproductive activity. This is one of the breeding periods in the desert jerboa.

Key words: *desert jerboa, ovary, follicles, histology, morphometrics, immune-response, estrogen.*

ملخص

المساهمة في الدراسة التشريحية، النسيجية والكيميونسيجية لمبيض جربوع الصحراوي (***Jaculus jaculus***)

تسمح لنا دراسة الجهاز التناسلي الأنثوي بتسليط الضوء على حياتها الإنجابية. عند الكائنات الصحراوية، في حين يضمن التكاثر الموسمي خلال أكثر الأوقات التي تتوفر فيها الشروط الملائمة خلال السنة بقاء المواليد ويزيد من إمكانات الإنجاب.

الهدف الرئيسي من عملنا هو دراسة بنية ونشاط المبيض لجربوع الصحراء *Jaculus jaculus* لأول مرة. لهذا تم استخدم تسعة من إناث الجربوع البالغة. بعد التضحية عن طريق قطع الرأس، يتم إزالة المبيضين وتثبيتها في 4٪ PAF؛ للدراسة الهيكلية النسيجية والكيميونسيجية المناعية لمستقبلات الاستروجين، وأيضا لدراسة القياسات الشكلية لجريبات المبيض.

أظهرت النتائج أن الدراسة النسيجية قد كشفت عن وجود شقوق في الجزء الأوسط من المبيض، بالإضافة إلى الجريبات التي تملأ المبيض بتوزيع متجانس للجريبات البدائية ذات الأحجام المتقاربة، وأحيانًا يكون غير متجانس بأحجام مختلفة جدًا. ان دراسة القياسات الشكلية تبين وجود تجمعات جريبيه في مراحل مختلفة من النضج. تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات وفقا للقطر: الجريبات الصغيرة قطرها: 0.36±2.44 µm، يصل قطر معتدلة النضوج منها الى: 0.37±8.57 µm، أما الجريبات الكاملة النضج يبلغ قطرها: 13.37 ±0.50 µm. تشير النتائج الكيميونسيجية المناعية إلى وجود استجابة مناعية إيجابية للأستروجين، تم العثور على علامات الوسم على مستوى الجزء الداخلي من الجريب الغاري وعلى مستوى الجزء الخارجي من قشرة الجريب. ان النتائج المتحصل عليها تظهر ان مبيض الجربوع في قمة نشاطه الإنجابي. وعليه تعد هذه الفترة واحدة من فترات التكاثر عند جربوع الصحراء.

الكلمات المفتاحية: الجربوع الصحراوي، المبيض، الجريبات، علم الأنسجة، علم القياسات الشكلية، الاستجابة المناعية، الأستروجين.

INTRODUCTION

Le désert est un endroit où les conditions sont extrêmes. les rongeurs désertiques échappent aux conditions rigoureuses de ce climat chaud en creusant des terriers ***(Baddouri et al., 1985)****, et en* développent des stratégies adaptatives comportementales et physiologiques.

En général les rongeurs déserticoles ne boivent pas l'eau qui est nécessaire à leur survie. Ils proviennent essentiellement de deux sources : l'eau préformée dont l'importance varie selon le régime herbivore ou granivore, et l'eau métabolique provenant du catabolisme des constituants (lipides, glucides, protides) de la nourriture. Ces rongeurs n'ont pas la capacité de retenir de l'eau et sont par ailleurs très sensibles à la déshydratation qui mène rapidement à leur mort ***(Petter et al., 1984).***

Les Dipodidae sont essentiellement des rongeurs des steppes et des déserts d'Afrique et d'Asie. Ils vivent dans des terriers où ils sont protégés des variations du climat. Dans le désert où les ressources sont faibles, les rongeurs granivores parcourent de longues distances. Cette famille comprend la Gerboise des steppes *Jaculus jaculus* ***(Linnaeus, 1758)*** ou petite gerboise d'Égypte est l'espèce le plus spécialisée qui nous intéresse le plus, car elles ont atteint dans divers domaines les limites extrêmes des capacités d'adaptation chez des mammifères terrestres.

Les gerboises comprennent 33 espèces dans l'ordre Rodentia, superfamille Dipodoidae, famille Dipodidae. Les gerboises sont divisées en quatre sous-familles - Euchoreutinae (la gerboise moyen-duc), Cardiocraniinae (la gerboise pygmée), allactaginae (quatre et five à embout gerboises) et dipodinae (les trois doigts gerboises). Les espèces *Jaculus jaculus* (Gerboise du désert) se trouve dans cette sous-famille celui-ci et le plus dérivé de gerboises ***(Shenbrot et al., 2008).***

Présente en région désertique à sub-désertique, sur substrats variés, de sableux à rocheux, à végétation souvent éparse, dans des zones parfois relativement perturbées par les activités humaines et le pâturage ***(Soudan, Happold, 1967)***. Creuse et occupe des terriers pouvant dépasser 1 m de profondeur. Nocturne, se déplace via une gamme de mouvements décrits en détail par ***Happold (1967),*** la plupart du temps sur ses pattes postérieures seulement ; course rapide pouvant atteindre 25 km/h, par des sauts de un à plusieurs mètres de long. Régime alimentaire essentiellement végétarien (graines, herbes et racines), marginalement insectivore.Comportements en captivité et vocalisations décrits par ***Happold (1967).***l'animal sauvage et endémique ***(Petter, 1961, IUCN, 2005)***, estive et hiberne.

La gerboise présentant de fortes variations saisonnières dans les fonctions biologiques afin de survivre à des conditions difficiles. Lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables au début de l'automne, elle arrête son axe reproducteur, augmente son poids corporel et finalement hiberne. Au printemps, la gerboise affiche des règlements opposés, avec une réactivation de la reproduction et une réduction du poids corporel ***(Talbi et al.,1796)***. L'activité sexuelle limitée à une période de l'année permettant la naissance des petits au moment le plus favorable à leur survie ***(Ouali-hassenaoui, 2006)***.

Les femelles peuvent avoir deux portées par an, de 2 à 5 petits. Le plus souvent 3, d'après ***Happold (1970).***Le temps de gestation varie en fonction de l'espèce de gerboise : il peut durer de 3 semaines. Gestation : 27 jours ***(Dieterlen 1993, in Happold, 1970)*** à un mois. La femelle donne naissance à ses petits dans un nid aménagé et tapissé de poils (souvent des poils de chameau). Les gerboises ne sont pas assez résistantes et sont trop habituées à vivre dans des régions désertiques donc l'élevage de gerboises est très compliquée car en captivité, la femelle ne s'occupe pas de ses petits et les rejette. Il est donc très difficile d'élever les petits sans la participation de leur mère.

Chez la femelle, l'activité sexuelle de laquelle dépendent les performances de reproduction, est contrôlée par l'ovaire ***(Ishimwe, 2008).*** C'est le lieu de l'ovogenèse et de la folliculogenèse, deux phénomènes culminant à l'ovulation ***(Wurth, 2010).***

L'objectif de ce travail est d'étudier l'architecture générale de l'ovaire de la gerboise déserticole *(Jaculus jaculus),* et plus précisément de mettre en évidence la structure interne de cette galnde, et d'étudier la contribution anatomique, histologique et immunohistochimique des follicules ovariennes chez cet animal, pour permettre de Mieux comprendre leur vie reproductive.

Afin d'atteindre nos objectifs, nous avons réalisé ce mémoire, qui comporte d'abord une introduction. Puis, une partie bibliographique qui décrit après un rappel général sur l'anatomie et la physiologie de l'appareil génital femelle, précisément celle de l'ovaire et ses composantes, l'ovogenèse et la folliculogenèse, ainsi que la biologie du model animal étudié. La partie matériels et méthodes présente le côté pratique du travail avec tous les protocoles expérimentaux. Enfin les résultats seront présentés sous forme de photomicrographies des tissus ovariens traités par les différentes techniques utilisées dans cette étude, et seront par la suite discutés afin d'essayer d'avoir la réponse à notre problématique. En conclusion de nouvelles pistes de recherche seront définies.

CHAPITRE I : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Anatomie et physiologie de l'appareil génital femelle

L'appareil génital femelle se compose d'organes externes et internes. Les organes génitaux externes sont formés par le mont du pubis, les grandes lèvres, les petites lèvres, le clitoris, l'orifice génital, l'hymen, l'orifice urinaire (méat urétral), les glandes de Bartholin ***(Wainsten, 2012)***. Les organes génitaux internes comprennent ; Deux ovaires qui assurent les fonctions germinales (production d'ovocytes) et endocrines (sécrétions d'œstrogènes, progestérone).Deux trompes utérines qui constituent la partie initiale des voies génitales de la femelle. Ce sont 2 organes tubulaires contournés et relativement longs qui vont de l'utérus aux ovaires. Chaque oviducte comprend le pavillon ou infundibulum (qui coiffe l'ovaire et capte les ovocytes émis au moment de l'ovulation), l'ampoule (site de la fécondation) et l'isthme (long conduit étroit aux parois musculeuses assurant le transfert des œufs vers l'utérus).Un utérus qui est l'organe de la gestation. Chez la plupart des espèces, on décrit deux cornes utérines, crâniales, qui s'unissent caudalement sur le plan médian pour se poursuivre par un corps impair qui se raccorde au vagin par l'intermédiaire d'un col. Les cornes constituent deux formations tubaires dont les deux faces sont réunies par deux bords et qui se terminent par deux extrémités (proximale et distale). Le corps est un peu aplati dorso-ventralement, on lui reconnaît donc par deux faces (dorsale et ventrale), deux bords (mésométrial et libre) et deux extrémités (crâniale et caudale). Le col aussi appelé cervix représente un rétrécissement entre le corps utérin et le vagin ***(Gayrard, 2015)***. L'apex des cornes de l'utérus est voisin des ovaires. Suivant l'espèce, il sera donc placé

plus ou moins caudalement dans la cavité abdominale. Pour des espèces dont les ovaires sont crâniaux (rongeurs), les cornes et le corps de l'utérus seront étirés suivant l'axe longitudinal de l'organisme. Pour les espèces dont les ovaires sont caudaux (ongulés), l'utérus va s'enrouler sur lui-même en dessinant des spires à axe transversal. Les ovaires sont crâniaux (rongeurs), les cornes et le corps de l'utérus seront étirés suivant l'axe longitudinal de l'organisme. Pour les espèces dont les ovaires sont caudaux, l'utérus va s'enrouler sur lui-même en dessinant des spires à axe transversal ***(Gayrard, 2015).***

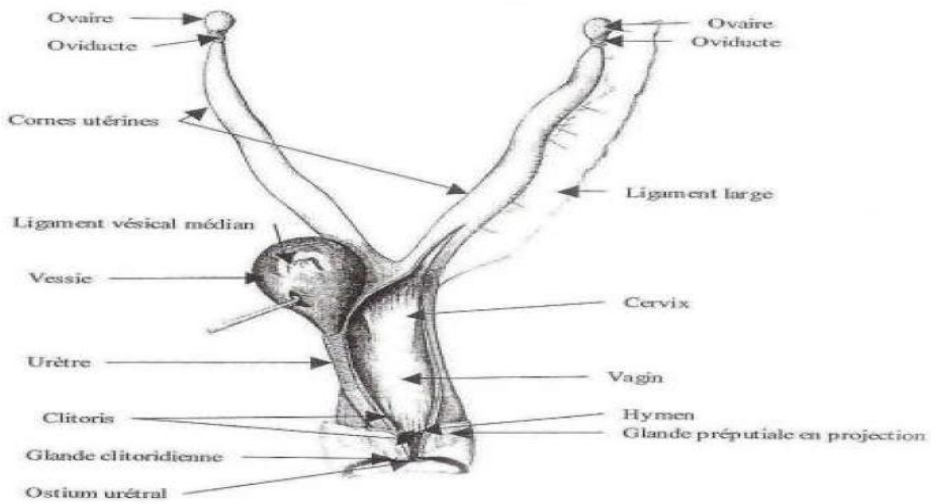


Figure 1 : Vue ventrale de l'appareil génital du hamster doré femelle ***(Popesko et all ,1992).***

L'utérus peut prendre plusieurs configurations selon les espèces. Chez la lapine, la ratte et le cobaye, la division est complète (deux cornes, deux corps, deux cols utérins). Chez le Hamster les deux corps débouchent dans un col commun. Dans ces trois espèces l'utérus est dit "duplex". Chez la souris, les deux cornes débouchent dans un corps puis dans un col commun. Les cornes et le corps sont d'une longueur équivalente où l'utérus est qualifié de "bicorne". Les cornes sont beaucoup plus longues que le corps dans les autres espèces où l'utérus est qualifié de "bipartite" ou bipartitus. Quant, on ne trouve

qu'une corne, un corps et un col avec deux trompes ; l'utérus est dit "simplex"***(Gayrard, 2015).***

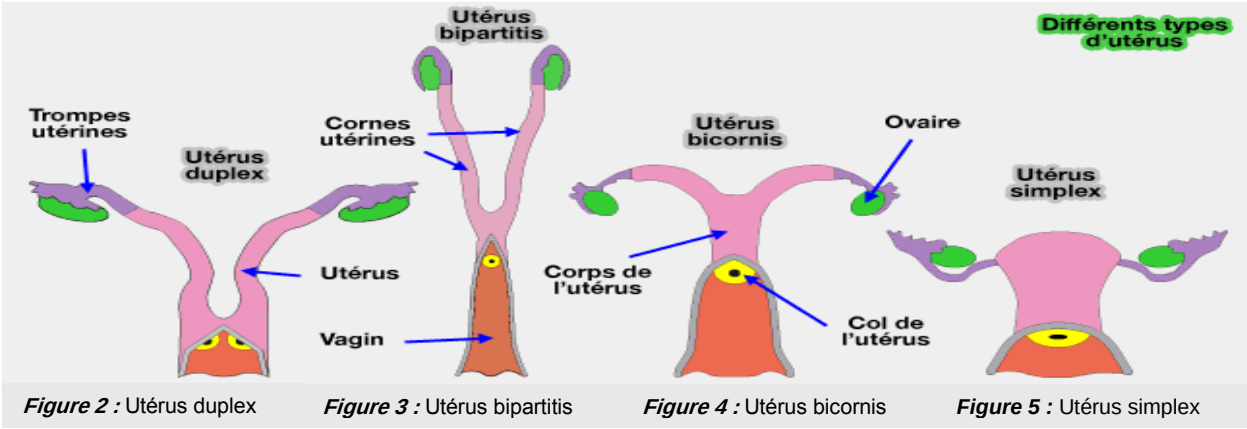


Figure 2 : Utérus duplex ***Figure 3 :*** Utérus bipartitis ***Figure 4 :*** Utérus bicornis ***Figure 5 :*** Utérus simplex

Figure 6 : Anatomie comparée du tractus génital femelle.

Un col utérin ou cervix qui sépare l'utérus du vagin et isole ainsi en permanence la cavité utérine de la cavité vaginale. Un vagin avec le vestibule du vagin séparé par une membrane : l'hymen. Le vagin correspond à la portion des voies génitales femelles qui va recevoir l'organe copulateur du mâle. Le vestibule du vagin, qui correspond au trajet terminal commun des voies génitales et urinaires, est plus ou moins long suivant les espèces.

I.2. Anatomie et Histologie de l'ovaire

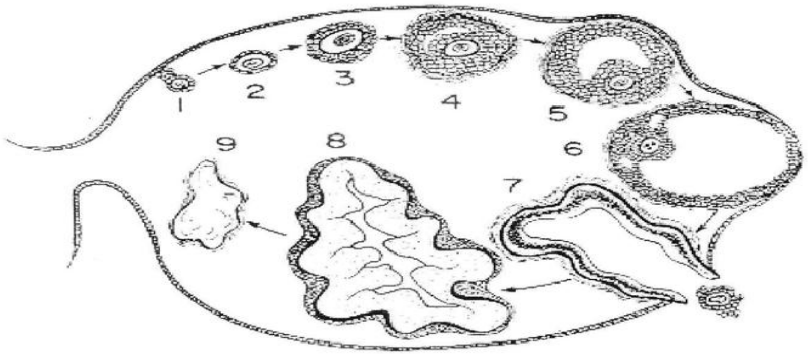
Chez la femelle, l'activité sexuelle de laquelle dépendent les performances de reproduction, est contrôlée par l'ovaire. C'est pourquoi, après une description de ces gonades dans un cadre général de l'anatomie de l'appareil génital femelle, nous examinerons leurs fonctions et les facteurs qui peuvent influencer leurs activités.

I.2.I. Anatomie macroscopique

Les ovaires sont des glandes se trouvant au nombre de deux. De forme, dimension et localisation variable selon l'espèce. Chez les rongeurs (cobaye, hamster, souris, rat), les ovaires de petite taille ovoïdes, jaunâtres ou rosés sont situés au pôle postérieur du rein et entourés d'un corps adipeux ***(Gayrard, 2015)***. Ils produisent les cellules reproductrices femelles contenues dans de petits sacs : les follicules de De Graaf.

I.2.2. Anatomie microscopique

La surface des ovaires est revêtue par un épithélium cubique simple appelé épithélium germinatif. Sous cet épithélium, le stroma réalise une couche conjonctive dense, mal limitée, parfois appelée albuginée. Cette albuginée est responsable de la couleur blanchâtre des ovaires ***(Maillet M. et al., 2001).***A l'intérieur, l'ovaire se compose de deux zones: Une zone périphérique, appelée cortex, constitué d'un stroma cellulaire compacte qui contient des follicules ovariens. Ces follicules renferment des gamètes femelles à différents stades de développement. Une zone plus profonde, la médulla qui contient les cellules musculaires, les nerfs et les vaisseaux sanguins principaux (artères et veines tortueuses qui irriguent le cortex). Elle est en continuité avec le hile ovarien ***(Leeson et Leeson,1980).***



(1) Ovogonie entourée de cellules folliculaires, ces dernières dérivant de l'épithélium germinatif. (2) Follicule primaire. (3, 4, 5) Follicules en cours de maturation. (6) Follicule de DE GRAAF. (7) Rupture folliculaire. (8) Corpus albicans

Figure 7 : Schéma d'un ovaire montrant le développement et la destinée des follicules ovariens ***(Peters et Ball,1995).***

I.3. Physiologie de l'ovaire

Les ovaires assurent 2 fonctions majeures : une fonction exocrine. Ils permettent la croissance, la maturation et l'émission du gamète femelle (l'ovocyte mature), une fonction endocrine. Ils assurent la synthèse d'hormones stéroïdes indispensables à la fonction de reproduction ***(Heath et al., 2008).***

I.4. Embryologie ovarienne

L'embryogenèse ovarienne fait intervenir deux types des cellules : la lignée germinale, constituée des cellules germinales primordiales qui évolueront en ovogonies puis en ovocytes, et la lignée somatique qui donnera les cellules folliculaires (granulosa et thèques) ainsi que le stroma ovarien. la lignée somatique ayant pour origine les constituants cellulaires de la crête génitale, tandis que la lignée germinale est constituée par des cellules issues de l'ectoderme primaire (épiblaste) qui coloniseront la crête génitale ***(Frank et all,2006).***

I.5. Gamétogenèse

L'ovaire est un organe de stockage des ovocytes formés pendant la vie embryonnaire ou autour de la naissance (rongeur). Il est le lieu d'ovogenèse et de la folliculogenèse, deux phénomènes culminant à l'ovulation.

L'efficacité reproductive va dépendre de la taille du stock de follicules primordiaux produits pendant la vie fœtale et du bon déroulement de la folliculogenèse pendant toute la vie reproductive de la femelle.

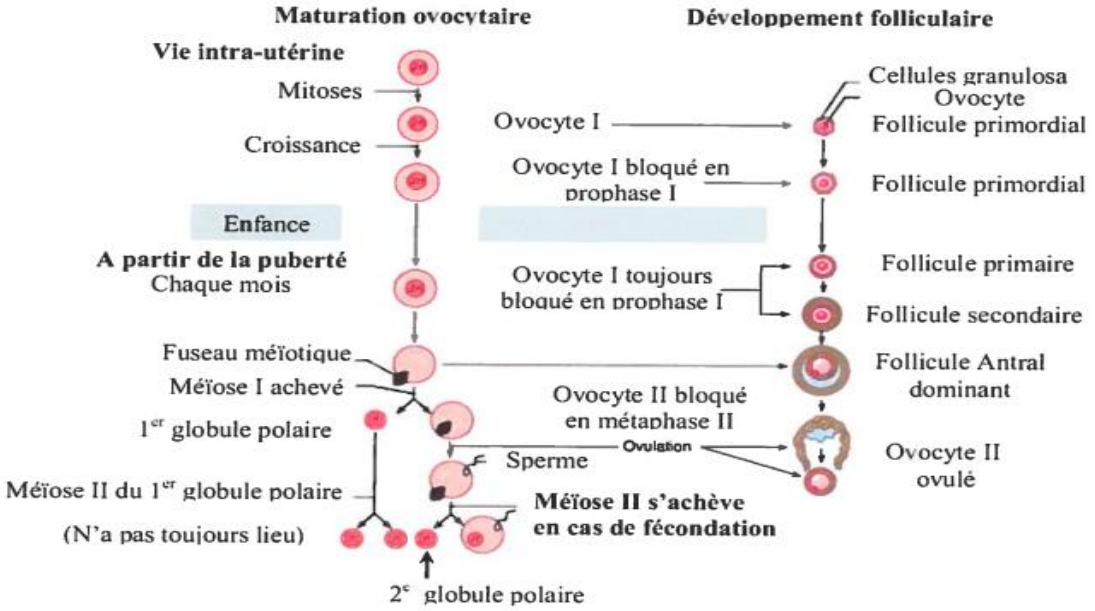


Figure 8 : Développement ovocytaire

Figure 9 : Développement folliculaire

Figure 10 : Déférant stades du Gamétogenèse chez la femelle

I.5.1. Ovogenèse

L'ovogenèse correspond à l'ensemble des processus permettant la croissance et la maturation d'une ovogonie jusqu'au stade d'ovocyte mûr ***(Ramé et Thérond,2009).***

I.5.2. Folliculogenèse

La folliculogenèse correspond à la succession des différentes étapes du développement du follicule depuis le moment où il se met en place lors de la

vie foetale jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation et son involution ***(Ramé et Thérond, 2009).***

La folliculogenèse est l'ensemble des phénomènes qui assurent l'apparition puis la maturation des follicules ovariens ***(Maillet, 1974).***

I.5.2.1. Phase de croissance folliculaire

Le follicule primordial se transforme en follicule primaire, secondaire et en follicule tertiaire. L'ovocyte est alors séparé des cellules folliculeuses (Granulosa) par une couche hyaline, la zone ou membrane pellucide ***(VAISSAIRE, 1977).***

a- Follicule primordial

C'est le plus petit des follicules. On distingue deux types de follicules primordiaux : Le follicule primordial qui est directement entouré d'une couche de cellules aplaties, les cellules de pré-granulosa. Ces follicules constituent le stock de follicules au repos, ils sont situés dans la couche la plus périphérique du cortex ovarien et constituent la majeure partie (>95%) de la population ovarienne**,** et Le follicule primordial transitoire qui est entouré d'une couche unique de cellules de granulosa cuboïdales. Le diamètre de l'ovocyte est toujours assez faible **(Driancourt *et al.*, 1998).**

b- Follicule primaire

Le follicule primaire est constitué d'un ovocyte entouré d'une couche de cellules cuboïdales de granulosa. La zone pellucide n'est pas encore visible ***(Driancourt et al., 1998).***

c- Follicule secondaire

Le follicule s'entoure d'au moins 2 couches de cellules de granulosa, la thèque interne s'ébauche, la zone pellucide devient visible ***(Driancourt et al., 1998).***

d- Follicule préantral

On distingue à ce stade 3 couches thécales ou plus, mais pas encore de cavité au sein des cellules de la granulosa ***(Driancourt et al., 1998).***

e- Follicule à antrum

On distingue alors plusieurs couches thécales ainsi qu'une cavité dont le diamètre croit avec le développement du follicule, s'emplissant de liquide folliculaire. Lors de la formation de l'antrum, l'ovocyte a atteint 80% de sa taille définitive, puis sa croissance est ralentie jusqu'à l'ovulation ***(Driancourt et al., 1998).***

I.5.2.2. Vague folliculaire

Au cours du cycle œstral, la population de follicules antraux se renouvelle par alternance de croissance et régression folliculaire appelée vague folliculaire. La dynamique folliculaire implique plusieurs stades séquentiels, soit le recrutement, la sélection, la dominance et l'atrésie ou l'ovulation ***(Webb et all., 2004).*** Le recrutement débute avec le développement de manière synchrone d'une cohorte de follicules. Selon l'espèce, un ou plusieurs follicules vont être sélectionnés, évoluer vers la dominance pour enfin terminer leur évolution vers l'ovulation ou la régression lorsque les conditions endocriniennes ne sont pas réunies. Les follicules de la cohorte n'ayant pas été sélectionnés vont quant à eux devenir atrétiques et

régresser ***(Adams et al., 2008).***

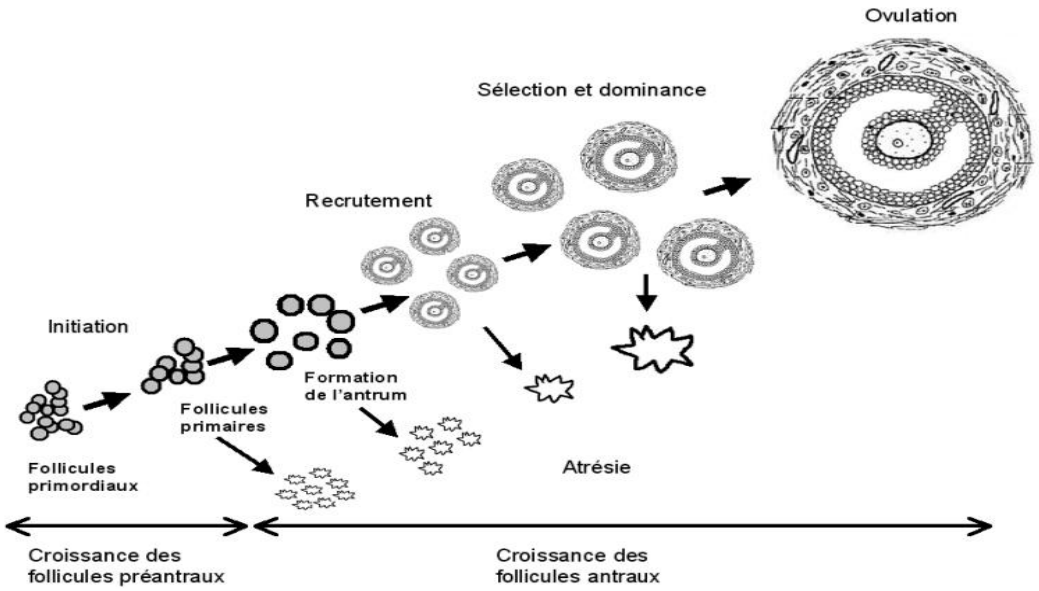


Figure 11 : Vague folliculaire ***(Webb et all., 2004).***

I.6. cycle œstral

Au cours de la période d'activité génitale, le tractus génital femelle présente des modifications macroscopiques, microscopiques et comportementales se produisant avec la même chronologie et revenant à intervalles périodiques, connues sous le nom de cycle sexuel ou cycle oestral, apparaissent au moment de la puberté, se poursuivent tout au long de la vie et ne sont interrompues que par la gestation ***(Banks, 1993).*** Ça durée varie en fonction de l'espèce, peut être divisé en quatre périodes correspondant à différentes phases de l'activité ovarienne ***(Derivaux, 1971 ; Vaissaire, 1977).***

>Le proestrus : période de maturation folliculaire (phase folliculinique) ; un ou plusieurs follicules sont en voie de maturation ***(Vaissaire, 1977)*** .Cette première phase du cycle est caractérisée par une maturation folliculaire et une prolifération de l'endomètre, sous l'influence de la FSH. Le follicule commence

à sécréter des oestrogènes qui induisent l'oestrus ***(Priedkalns et Leiser, 1998 ; Banks, 1993).***

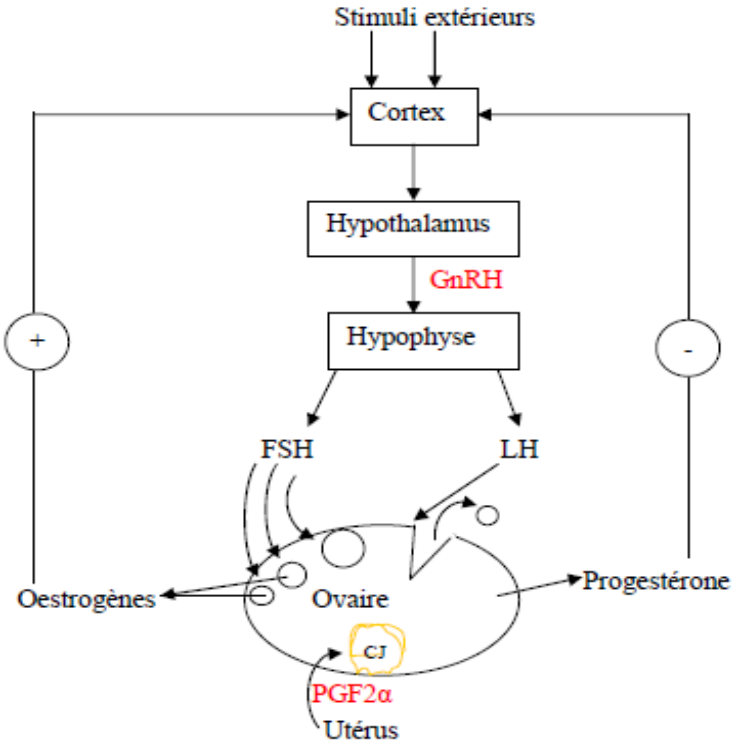


Figure 12 : Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle oestral ***(picard-Hagen et al ., 1997).***

>L'œstrus ou chaleurs ou rut : C'est la période de réceptivité sexuelle : La femelle accepte le mâle. Cette phase est marquée par la totale influence des oestrogènes sur les organes génitaux. L'ovulation se produit suite à un pic de LH. A la fin de l'oestrus, le taux d'oestrogènes diminue ***(Priedkalns et Leiser, 1998 ; Banks, 1993).***

>Le metoestrus : formation et fonctionnement du corps jaune avec installation d'un état pré-gravidique de l'utérus (phase lutéale) ; il y'a transformation des follicules en corps jaunes à la suite de l'ovulation ***(Vaissaire, 1977).***

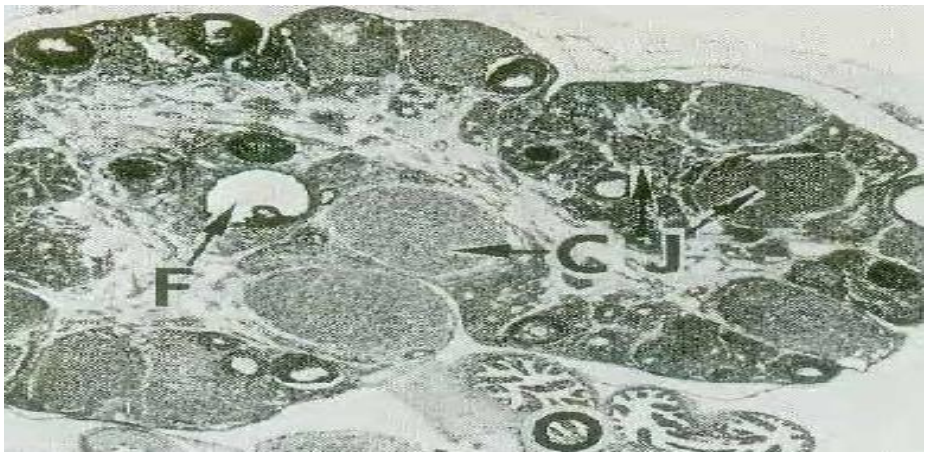


Figure 13 : Coupe d'ovaire de ratte vue à faible grossissement (Gx8).Nombreux coros junes (CJ) faisant saillit sur la corticale ***(Vaissaire, 1977).***

>Le dioestrus : période de repos sexuel correspondant à la lutéolyse, cette phase peut être très longue ***(Vaissaire, 1977).***

Pro-oestrus (j)	Oestrus (h)	Metoestrus (j)	Dioestrus (j)	Durée du cycle (j)
1	12-34	0,5	2	4 à 6
*FRIEDMANN, 1968	*FRIEDMANN, 1968 ; MC DONALD, 1969 ; *SWENSON, 1970	*FRIEDMANN, 1968	*FRIEDMANN, 1968	MC DONALD, 1969 ; HAFEZ, 1970 ; *SWENSON,1970 ; *ALTMAN, 1972 ; *HUME, 1972

Figure 14 : Durée des différentes phases du cycle sexuel chez la ratte ***(Vaissaire, 1977).***

Cycle	Pro-œstrus	Œstrus	Métœstrus	Diœstrus
	24 à 36 heures*	24 à 72 heures*	24 à 120 heures*	48 à 96 heures*
4 à 5 jours°	24 à 36 heures°	12 à 14 heures°	24 à 48 heures°	36 à 72 heures°

Figure 15 : Durées du cycle sexuel de la souris ***(Rugh, 1968* et Vaissaire, 1977°).***

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel non biologique

➥ Voir l'annexe.

II.2. Matériel biologique

Le modèle animal de notre étude est la gerboise déserticole *Jaculus jaculus*, elle est aussi appelée la gerboise des steppes et petite gerboise d'Égypte (Lesser egyptian jerboa).Les gerboises utilisés dans ce travail sont des gerboises adultes femelles ayant un poids moyen de 50 à 75 grammes, ces gerboises ont été capturées pendant la saison du printemps- été dans les déserts, et particulièrement dans la région de still ou bien stile de wilaya El Oued en Algérie.

II.2.1. Classification

Selon **(Linnaeus, 1766)**

- **Règne :** Animal
- **Embranchement :** Vertébrés
- **Classe :** Mammifères
- **Sous-classe :** Placentaires
- **Ordre :** Rongeurs
- **Sous-ordre :** Myomorphes
- **Famille :** Dipodidae
- **Sous-famille :** Jaculidés
- **Genre :** Jaculus
- **Espace :** *Jaculus jaculus*



Figure 16 : *Petite gerboise d'Égypte* ***(Originale).***

II.2.2. Biologie de l'animal

La petite gerboise d'Égypte est bien connue avec son pelage couleur de sable, ses oreilles sont bordées de noir ***(Grasse et Dekeyer, 1955),*** La tête et la surface dorsale du corps sont de couleur l'orange brunâtre au brun clair. Les cheveux du dos ont une longueur d'environ 15 mm ; les deux tiers du bas corps

sont gris, le tiers terminal est orange brunâtre la pointe des cheveux est noire. Le menton, les côtés du visage, le cou, les membres antérieurs et la surface ventrale sont blanc ***(Hoppold, 1967)***. La queue est terminée par une touffe de poiles ***(Grasse et Dekeyser, 1955).***La queue a une longueur d'environ 180mm, la touffe est principalement noir, mais avec quelques poils courts et blancs distales ***(Hoppold, 1967).***

II.2.3. Répartition géographique

Cette espèce est présente partout en Afrique du Nord et dans la péninsule arabique jusqu'à l'est du sud-ouest de l'Iran. On le trouve dans le désert avec des traces éparses du Sénégal et du Mali à travers la Mauritanie et le Maroc vers l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Egypte, l'Erythrée et la Somalie, mais absent du delta du Nil ***(Amori et all, 2016)***. L'espèce est particulièrement commune en Egypte, où elle obtient son nom commun, la petite gerboise d'Égypte***. (Brown et al., 1994).***

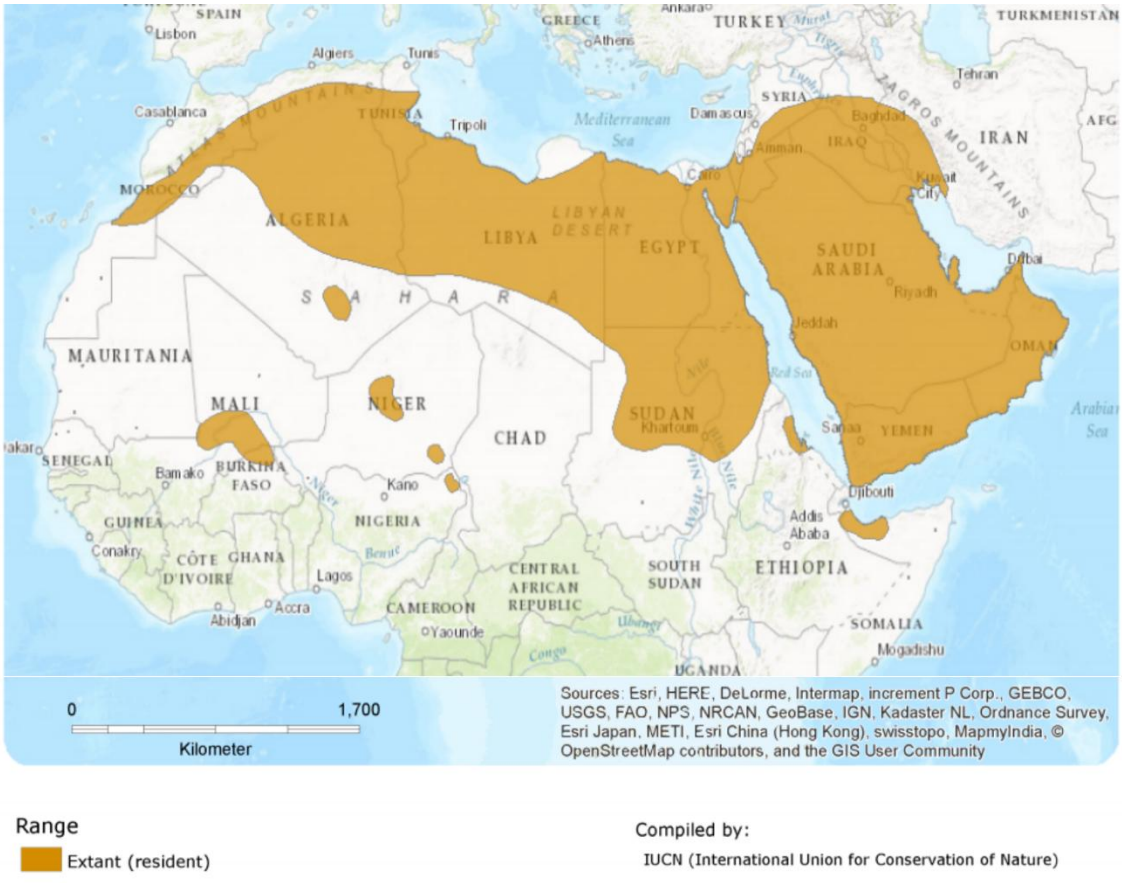


Figure 17 : Répartition géographique de la gerboise déserticole***(INCN).***

II.2.4. Comportement

La gerboise ne se déplace que la nuit, quand il fait plus frais dans le désert. Ce sont des créatures solitaires qui creusent des terriers dans le sable dans une spirale antihoraire. Les terriers sont creusés dans un sol dur et atteignent une profondeur d'environ 1-2 mètre. Il y a quelques sorties supplémentaires hors du terrier principal, et le nid est au fond. Un saut peut avoir plusieurs mètres de longueur. Ils ont une saison de mue de mars à juillet. Une chose intéressante à propos de ces animaux est leur activité de sablage. Pendant les périodes chaudes et des périodes de sécheresse, le J. jaculus estive dans son terrier. Il a été débattu que cette espèce hiberne en hiver ***(«Les mammifères du monde de Walker», 1997).***

II.2.5. Reproduction

La saison de reproduction principale est juste après les pluies, du mois octobre jusqu' à novembre. Dans les conditions l'élevage elle se prolonge jusqu'à février. D'autres études suggèrent que certains gerboises peuvent se reproduisent au début des pluies, mais il s'agit d'une saison de reproduction distincte ou la première partie de la saison de reproduction principale est inconnue. Les gerboises nouvellement nés n'ont pas de jambes et de queues disproportionnellement longues comme dans les adultes ***(Happold, 1967)***.

II.3. Protocol expérimental

II.3.1. Capture et élevage des animaux

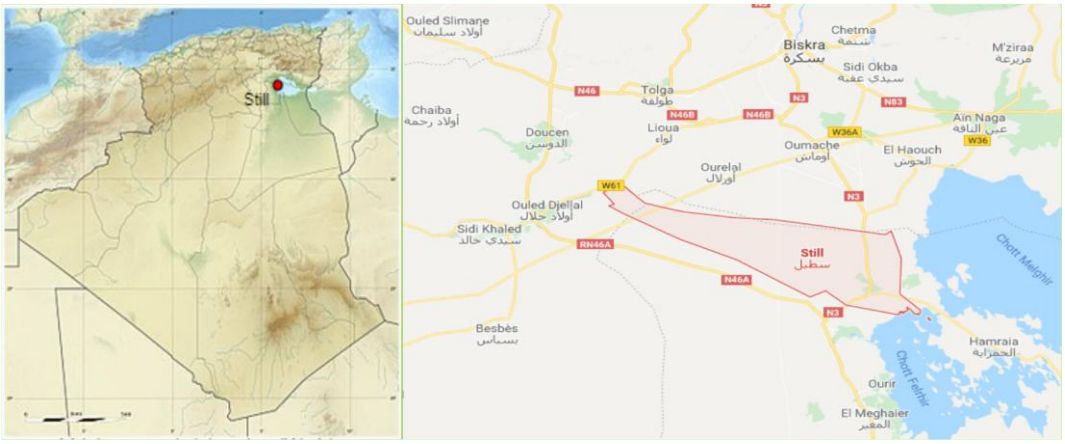


Figure 18 : *Région de Still ou Stile, Wilaya d'El Oued en Algérie* ***(Google Map).***

Les gerboises utilisées dans ce travail ont été capturées dans la région de Still/Stile, est une commune de la wilaya d'El Oued en Algérie, elle est situé au Nord-Ouest de la wilaya, elle est à 89 Km de la wilaya de Biskra, à une altitude de 254 mètres, à 34° 15' 34'' Nord, 5° 54' 50'' Est.

C'est une région désertique sèche et chaude. En général, le climat saharien est caractérisé par un déficit hydrique dû à la rareté des précipitations, à l'évaporation intense, aux fortes températures et à grande luminosité ***(Toutain, 1979)***.

II.3.2. Sacrifice et prélèvement des organes

Dès leur arrivée au laboratoire, les gerboises ont été trié par sexe et placées dans des boites avec du sable, gardés au laboratoire dans des conditions climatiques et alimentaires proche de celles du milieu naturel, la nourriture composé de grains d'orge, de maïs et sans eau de boisson.



Figure 19 : *Petites gerboises d'Égypte en captivité* ***(Originales).***

Après la période d'adaptation, les gerboises sont sacrifiées le matin sous anesthésie au chloroforme par décapitation, au niveau de « Laboratoire (301) d'Ecobiologie Animale » de biotechnologie à l'université de Blida 1 ; Saad Dahleb. Le sacrifice a été effectué le 23 avril 2018, le 24 avril 2018 et 18 juin 2018 on a obtenu un nombre d'effectif de 9 gerboises femelles, sur lesquelles on a fait notre travail, donc 18 ovaires.

Après la dissection, les ovaires sont rapidement prélevés, débarrassées du tissu adipeux, ils ont été immédiatement rincées au PBS puis fixées dans du PAF à 4%.



Figure 20 : *Gerboise sous anesthésie* ***(Originale).***

II.3.3 Méthodes d'études

Les étapes de préparations histologiques faites au cours de cette étude restent à la base les mêmes décrites par ***Mertoja et Martoja (1967)***, mais notre travail s'est porté sur une technique plus récente par des appareillages automatiques **(annexe).**

II.3.3.1 Techniques Histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital « Farés Yahia » de Kolea wilaya de Tipaza, service d'anatomie pathologique dans un stage du duré de 4mois et au niveau de « Laboratoire (301) d'Ecobiologie Animale » dans le département de biotechnologie à l'université de Blida 1 ; Saad Dahleb, du duré illimité environ de 10 mois, suivant la technique comporte les étapes suivants ;

II.3.3.1.1. Fixation

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique, elle doit être réalisée rapidement après la décapitation

des gerboises et prélèvements des organes ; Les ovaires ont été alors mis dans le PAF à 4% **(Annexe).**



Figure 21 : La fixation des ovaires dans le PAF à 4%(***originale).***

II.3.3.1.2. La circulation

La circulation rend le tissu rigide pour qu'il reste intact lors des manipulations et puisse être coupé en tranches minces avant sa coloration et son examen au microscope, les tissus sont conservé dans le fixateur jusqu'au démarrage du cycle de circulation ***(Fortier et al., 2003)***.Cette étape est réalisée par un appareil automatique à rotation appelé « l'automate ou le circulateur».



Figure 22 : L'Automate de la cerculation leica ***(Originale).***

Le programme de circulation comprend les étapes suivants ;

a. Post-Fixation

Elle permet de compléter la fixation pour éviter que l'alcool utilisé dans l'étape suivante altéré les propriétés chimiques du tissu, un bain de fixateur PAF à 4% suffit.

b. Déshydratation

Elle permet d'extraire toute l'eau du tissu, par l'alcool éthylique, il est miscible dans l'eau et dans l'agent clarifiant. Comme il agit assez rapidement, on évite d'y laisser les tissus trop long temps ***(Caron et al., 2009)***.

Les cassettes contenant l'organe à étudier ; « les ovaires » subissent une déshydratation dans une série de bains d'alcool de concentrations croissantes : 70° (1bain), 80° (1bain), 95° (1bain), car une trop fort concentration risque de causer la déformation, la rétraction et le durcissement des tissus. Puis le trempage dans 3 bains d'alcool 100° à la fin du processus assure une bonne déshydratation et permet à l'agent clarifiant de bien pénétrer le tissu **(Annexe).** La durée pour chaque bain est d'une heure chacun.

c. Eclaircissement (ou Clarification)

Elle permet de remplacer l'agent déshydratant par un produit miscible dans la solution d'imprégnation, un bon agent clarifiant est un solvant anhydre dont l'indice de réfraction est élevé et permet d'augmenter la transparence du tissu ***(Fortier, 2003).***

Se fait par immersion dans trois bains de xylène afin de rendre les pièces transparentes ***(Headden et Williams, 1968 ; Buck, 1972)***.La durée est d'une heure pour chacun, ça consiste à éliminer l'alcool utilise dans la déshydratation. C'est ce qui permet une miscibilité entre l'alcool et la paraffine par conséquent préparer le tissu à l'imprégnation.

d. Imprégnation à la paraffine

Elle est la dernière étape de la circulation, le milieu utilisé est le même qu'à l'étape de l'enrobage. Un mélange à base de paraffine est le milieu le plus utilisé puis qu'il permet de bien remplir tous les cavités tissulaires, de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne au tissu. A l'enrobage, ce mélange offrira un support externe à la coupe.

Elle s'effectue à chaud dans deux bains de paraffine liquéfiée à chaud à 60°C, le premier pendant une heure et le deuxième bain est de septe heures.

II.3.3.1.3. Inclusion (ou enrobage) et confection du bloc de paraffine

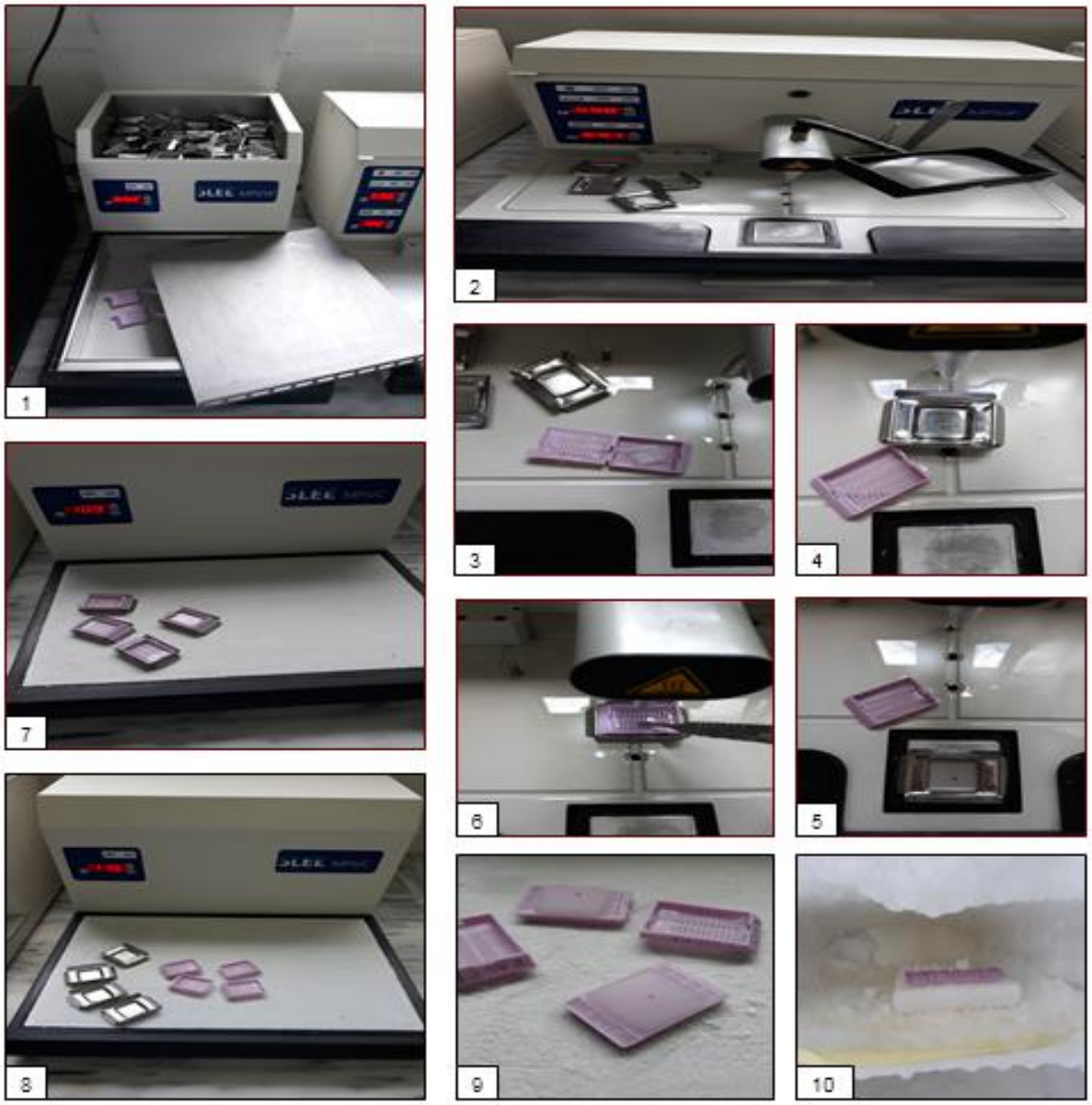


Figure 23 : Technique d'enrobage ***(originale).***

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine dans lequel on introduit une pièce de tissu qui a subi les étapes de circulation, grâce à un appareil d'inclusion **(annexe)**. L'enrobage permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome et assures une meilleure conservation du tissu par la suite. Selon les étapes suivantes ; préchauffage des moules de métal **(annexe)** et des cassettes en plastique dans une console thermique, par la suite mise en place centrée du tissu dans le moule à moitié rempli de paraffine ensuite la cassette portant la référence de l'échantillon est disposée sur le moule, à l'aide d'une pince. L'ensemble est placé sur la plaque froide ou plaque réfrigérante **(annexe),** après refroidissement, le bloc de paraffine peut être démoulé. Détaché du moule, un bloc de paraffine dur est obtenu **(annexe).**

La température de la paraffine ne doit pas dépasser 60°C aux fins des analyses immunohistochimique ***(Fortier, 2003 et CLSI, 2011).***

II.3.3.1.4. Confection des coupes

Les blocs de paraffine sont mis au réfrigérateur pour les refroidir, afin de pouvoir effectuer des coupes fines de 4-5 µm en utilisant un microtome leica. Tout d'abord, installé le bloc sur le porte bloc du microtome qui est réglé à 10 µm à fin d'éliminer le sur plus de la paraffine. Lorsque la pièce apparait dans le plan de coupe, on ramène l'échelle à 4-5 µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans **(annexe).**

II.3.3.1.5. Préparation de lames gélatinées

L'intérêt de cette préparation est d'évité le décollement des coupes notamment lors des manipulations histologiques.

Les lames doivent être incluses dans de l'alcool et l'acide chlorhydrique pour être dégraissées ensuite lavées et rincées. Dans une solution composée de mélange gélatine/alun de chrome les lames sont trempées puis mises à sécher à température ambiante pendant 24h **(annexe).**

II.3.3.1.6. Étalement des coupes

Il permet de redonner au tissu sa forme initiale avant de le récupérer sur une lame gélatinée pour l'examiner au microscope.

Après avoir choisi le bon ruban (fragment tissulaire clair et sans plis).Les coupes sont étalées sur une surface d'eau chauffée à 45-47 °C au bain marie **SLEE** à 45-47°C, déposée sur des lames gélatinées ou lames silanisées. La paraffine se ramollit brusquement. A l'aide d'un crions diamant, les indications de l'échantillon sont préalablement gravées sur la lame correspondante. Ces lames sont placées par la suit dans un panier (port lames) et séchées à 100°C dans une étuve pendant 15-20min afin d'aboutir non seulement à une bonne fixation du prélèvement sur la lame mais aussi pour ramouler la paraffine.

II.3.3.1.7. Coloration

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaire, ex : ce la coloration à hématoxyline-Éosine (HE) et de Trichrome de Masson.

Avant toute coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine et réhydratées. Les colorants sont hydrophiles tandis que la paraffine est hydrophobe ; c'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation.

II.3.3.1.7.1. Coloration d'hématoxyline éosine

C'est une coloration de routine où l'Hématoxyline colore les noyaux en bleu violet car c'est un colorant basique qui colore les structures basophiles (acide), et l'Eosine colore le cytoplasme car est un colorant acide qui colore les structures acidophiles (basique) en rouge ou en rose.

Pour la coloration d'hématoxyline éosine (HE), les coupes ont été colorées dans un automate de coloration **(annexe)** au niveau de service d'anatomie pathologique à l'Hôpital de Kolea « Farés Yahia », comme suite ;

a. Déparaffinage

Pour cela, il est nécessaire de préparer le tissu. Tout d'abord les lames doivent être plongées par l'automate de coloration dans un bain de xylène pendant 20 minutes afin d'éliminer la paraffine des tissus. Cette étape permet une meilleure imprégnation de ces derniers par le colorant.

b. Réhydratation

Ensuite on procède à l'hydratation dont le but est de chasser le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau étant donné que la plus part des colorants sont de nature aqueuse. Elle se traduit par le passage de panier des lames a colorées par l'automate dans trois bains d'éthanol à concentration décroissante ; respectivement 100° pendent 1 minute, 95° et 70° pendent 30 secondes, puis un bain de l'eau courante pendent 10 minutes pour le rinçage des lames.

c. Colorations, déshydratation et éclaircissement des coupes

L'automate de coloration doit d'abord plongées les lames dans un bain de l'Hématoxyline de HARRIS pendent 30 secondes, rincée à l'eau courante pendent 5 minutes, puis plongées dans un bain d'eau ammoniacale **(annexe)** qui permet de bleuir les noyaux pendent 15 secondes puis rincées encore avec de l'eau courante pendent 5 minutes. Les lames sont colorées à l'éosine **(annexe)** pendent 5 minutes puis rincées avec l'eau courante pendent 10 minutes. Puis plongées les lames dans un bain d'éthanol 90° pendent 30 secondes de façon à éliminer l'eau restante dans les coupes, c'est la déshydratation. Enfin le programme de l'automate est terminée, la dernière étape est celle de l'éclaircissement ; le panier des lames colorées mises manuel dans un bain de xylène sous la hutte **(annexe)** pendent 20 minute pour être prêt à l'étape suivante ; montage.

d. Montage

Le montage est la fixation par une substance appropriée d'une lamelle sur l'échantillon histologique, il s'agit d'Eukitt, qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle, une légère pression sur la lamelle permettant de chasser les

bulles d'air. Ce processus offre une protection contre la décoloration causée par l'oxydation par l'air ambiant ou les vapeurs de certains produits chimiques, en plus de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant, nettoyées au xylène puis observées au microscope photonique **(annexe).**

II.3.3.1.7.2. Coloration de Trichrome de Masson

C'est une coloration histologique trichromique, associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline, une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fushine-Ponceau) et une autre du collagène par vert lumière ou bleu d'aniline ***(Ganter et Jollés, 1970).*** Elle permet d'étudier les fibres de collagènes **(annexe).**

Les résultats : le collagène coloré en bleu ou en vert, le cytoplasme en rose à rouge, les noyaux en bleu foncé ou brun, les hématies et la granulation éosinophile en rouge ***(Marck, 2010).***

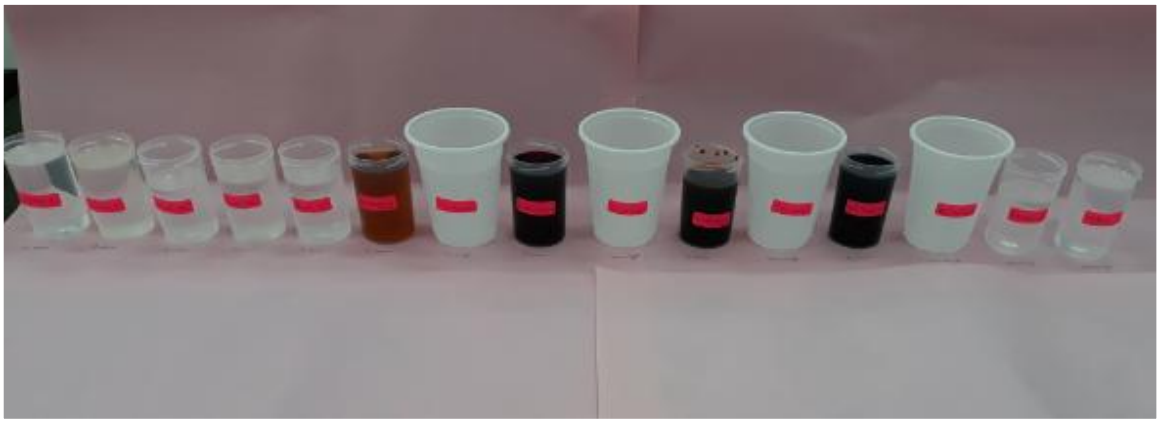


Figure 24 : Batterie de la coloration de Trichrome de Masson ***(originale).***

Pour la coloration de Trichrome de Masson, les coupes ont été colorées annuellement au niveau de « laboratoire 301 d'Ecobiologie Animale » au département de biotechnologie à l'université de Blida 1 ; Saad Dahleb, comme suite ;

- Avant d'appliquer la coloration de Trichrome de Masson les échantillons doivent passer par la technique histologique (voir la

technique d'histologie jusqu'à l'étalement des fragments sur les lames au bain marie).

- Les lames ont été préparées et sécher dans l'étuve **(annexe)** pendent toute une nuit, pour assurer une bonne fixation.
- Déparaffiner les lames dans deux bains de xylène de sept minutes pour chaque bain pour enlever la paraffine du tissu pour que les colorants hydrophiles puissent pénétrer.
- Réhydrater les lames dans trois bains d'alcool de degré décroissant ; 100°, 95° ,70° de cinq minutes pour chacun. L'hydratation permet l'apport de l'eau.
- Colorer par l'Hématoxyline **(annexe)** pendant trois minutes, permette la coloration des noyaux.
- Laver les lames par l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.
- Colorer les lames par la Fushine-ponceau enivrant cinq minutes, permette la coloration de cytoplasme en rose à rouge.
- Rincer les lames avec l'eau acétifie.
- Colorer par l'Orange G-Acide phosphomolybdique **(annexe)** pendent cinq minutes, donné la coloration orange.
- Rincer les lames avec l'eau acétifie.
- Colorer les lames par la Vert lumière pendant deux minutes, permet la coloration de collagène en vert.
- Rincer les lames avec l'eau acétifie.
- Déshydrater les lames par passage dans un bain d'alcool absolu (100°).
- Eclaircir les lames par passage dans un bain de xylène.
- Montage entre lames et lamelles avec une goutte de liquide de montage (Eukitt), les lames montées sont séchées à l'air libre. Le montage permet d'observer les lames et de les conserver.

II.3.3.2. Techniques d'Immunohistochimie

Dans cette étude on a utilisé le kit d'immunohistochimie « Novolink™ Polymer Detection System (250 tests) », Référence du produit : RE7140-K, ils

sont destinés à la révélation des anticorps primaires de type IgG de souris, IgM de souris et IgG de lapin.

Les Novolink™Polymer Detection Systems emploient une nouvelle technologie de polymérisation contrôlée pour préparer des conjugués polymériques HRP-anticorps de liaison. Par conséquent, le problème dû au marquage non spécifique susceptible de se produire avec les systèmes de détection Streptavidine/Biotine en raison de la présence de biotine endogène, ne se pose plus.

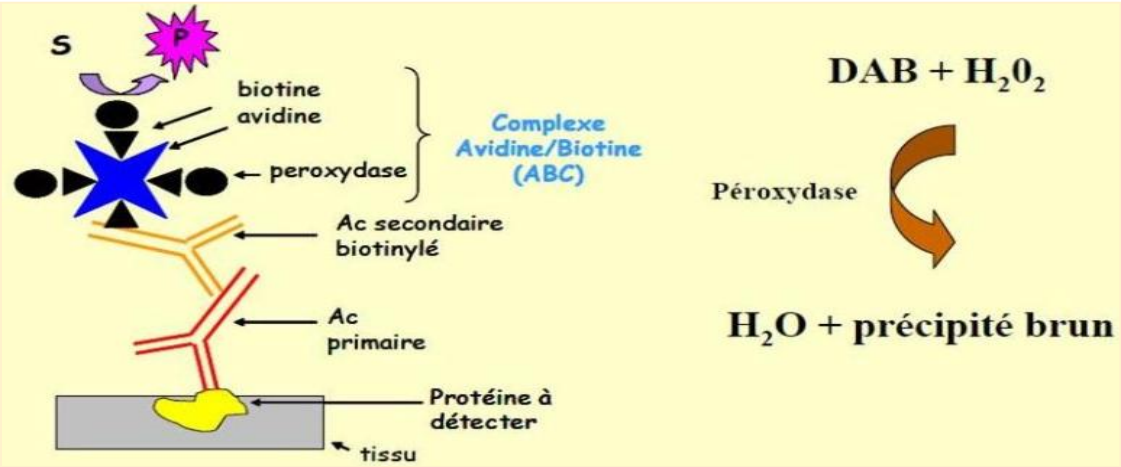


Figure 25 **:** Principe de la technique immunohistochimique.

L'immunohistochimie est une technique qui combine l'immunologie et l'histochimie dans le but de mettre en évidence sur une coupe histologique une molécule grâce à ses propriétés antigéniques **(figure).** Elle permet la détection spécifique des protéines c'est-à-dire leur localisation sur un matériel cytologique ou des coupes tissulaires. Une quantification de ces dernières est tout à fait possible et est réaliser à des fins diagnostiques.

Cette technique est basée sur l'utilisation d'un anticorps primaire spécifique dirigé contre la molécule à étudier, le complexe anticorps-antigène formé est visualisé grâce à un anticorps (Ac) secondaire biotinylé qui fixera avec une grande affinité la streptavidine couplée à la peroxydase. Le peroxyde d'hydrogène (H2O2) et 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) ont été utilisés respectivement comme substrat de l'enzyme et chromogène de la réaction qui donne une coloration brunâtre.

L'application des anticorps peut se faire de deux manières distinctes : par méthode direct, c'est-à-dire en liant un anticorps conjugué à un marqueur à sa substance cible, ou par méthode indirecte, en incubant l'anticorps primaire dans la substance cible, puis en liant un anticorps secondaire marqué à l'anticorps primaire **(figure).**

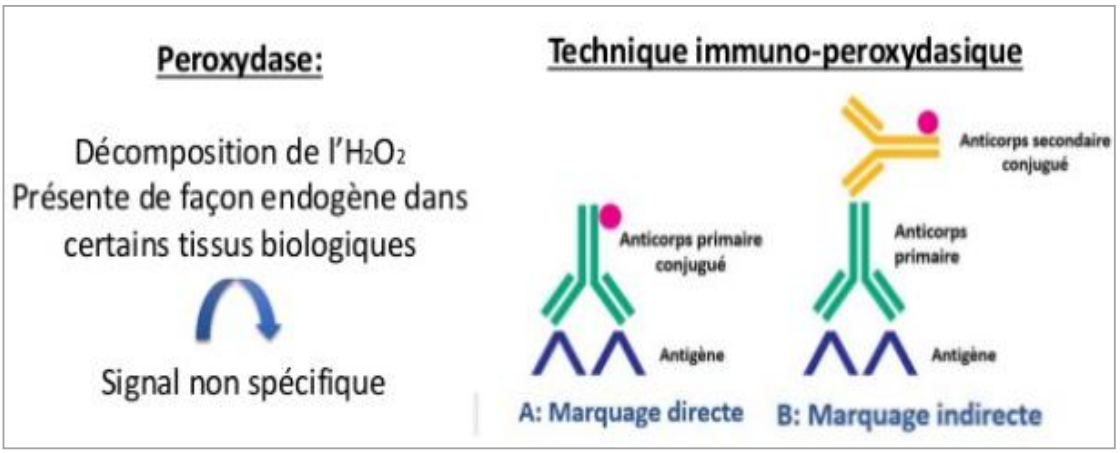


Figure 26 : Le marquage direct et le marquage indirect.

II.3.3.2.1. Étapes de la réaction immun-histochimique

Avant d'appliquer le traitement d'immuno-réaction les lames doivent passer par les étapes de préparation des échantillons par la technique histologique (voir la technique d'histologie jusqu'à l'étalement des coupes sur les lames silanisées).

II.3.3.2.1.1. Prétraitement de tissu

a. Déparaffinage et réhydratation des coupes

Le but de cette étape est l'élimination de la paraffine et la réhydratation du tissue pour permettre la rentrée des réactifs (qui sont de nature aqueuse).

Le déparaffinage, consiste à placer les coupes étales sur les lames silanisées **(annexe)** qui permettent l'adhérence du prélèvement car cette dernière subira plusieurs traitements physiques, chimiques et thermiques dans un panier et les incubées pendent une nuit dans l'étuve à 55°C, pour assurer une bonne fixation et d'éliminer l'excès de paraffine.

Ensuite, retirer le panier de l'étuve et le faire passer dans deux bains de xylène pour un déparaffinage complet pendent 10 minutes pour chacun, suivi par cinq bains d'alcool de degré décroissant ; deux bains de 100°, un bain de 90° pendent cinq minutes pour chacun et un bain de 70°, un bain de 50° pendent une minute, le dernier bain consiste à un rinçage des coupes dans de l'eau distillée.



Figure 27 : Batterie de déparaffinage et réhydratation des coupes pour l'immunohistochimie ***(originale).***

b. Démasquage antigénique

L'action du fixateur prouve masquer les épitopes de certains antigènes, un démasquage antigénique est parfois nécessaire, pour but d'exposer le site antigénique à l'anticorps.

Le démasquage par la chaleur donne de bons résultats, mais demande une grande précision pour ce qui est de la température, de la durée d'incubation et du pH des tampons utilisés, qui peuvent varier selon l'anticorps (***Brown et Richard, 2009***).

Le principe est de réaliser un démasquage antigénique dans une solution de démasquage composé de citrate de PH=6 **(annexe)** selon la recommandation des anticorps primaire. Apres la dilution des PH selon le protocole **(annexe)** et la sélection des marqueurs selon le PH **(annexe)** chaque portoir des lames est mis dans le bac de la solution du démasquage correspond préchauffée au bain marie à 92°C, et incubé pendent 50 minutes. Ensuite, il faut sortir le bac, et laisser refroidir pendent 20 minute, Les lames sont par la suite lavées en deux bains de PBS pendent cinq minutes pour chacun.



Figure 28 : Technique de démasquage antigénique ***(originale).***

II.3.3.2.1.2. Immuno-marquage

a. Blocage des peroxydases endogènes

Les enzymes naturellement présentes dans certains constituants tissulaires peuvent réagir avec les réactifs utilisés et causer une coloration parasite. L'activité enzymatique peut être attribuable, entre autres, à la peroxydase ou à la phosphatase endogène. L'emploi d'un agent de blocage permet de l'inhiber ***(Fortier, 2003).***

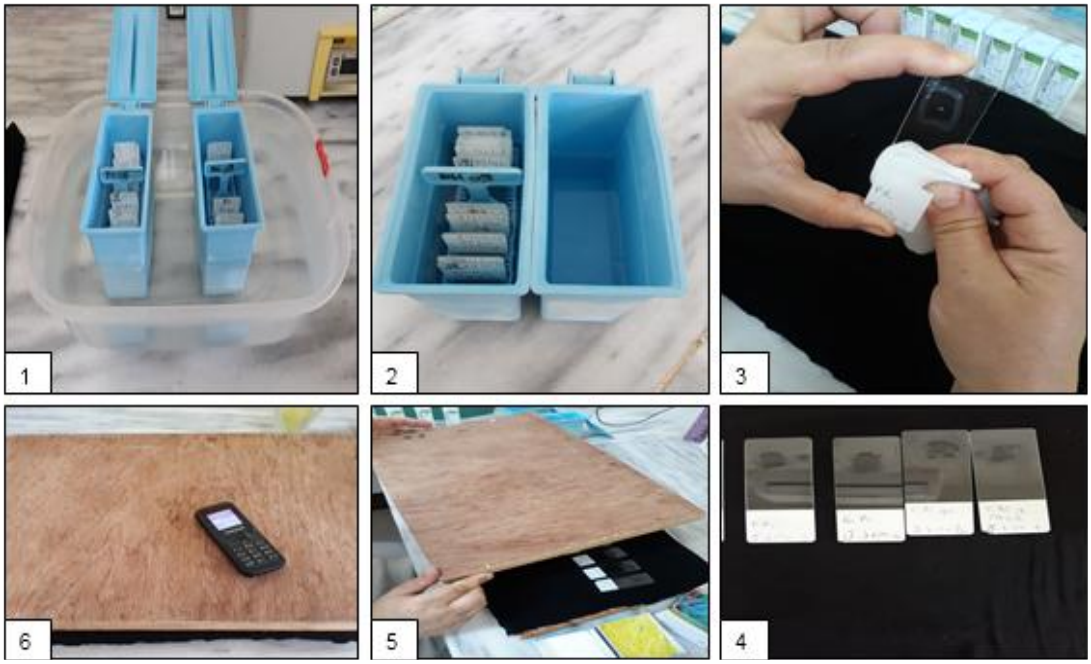


Figure 29 : Technique de blocages des antigénique ***(originale).***

Après l'incubation au bain marie et refroidissement à température ambiante pendant 20 minutes et après le rinçage on dépose les lames sur un

plateau humidifié, après les avoir sécher par tapotage et papier absorbant, puis limiter la zone de l'échantillon pour ne pas gaspiller les réactifs en utilisant le DACO Pen **(annexe)** qui contient une matière hydrophobe . Ensuite pour une bonne fixation des sites endogènes on utilise (H_2O_2) l'eau oxygénée (Peroxide Block), les lames sont incubées pendent cinq minutes à l'abri de la lumière, puis rincées dans deux bains de PBS (WASH BUFFER) de cinq minutes pour chacun.

b. Application de l'anticorps primaire

Les anticorps primaires spécifiques des antigènes à rechercher ont été appliqués à leurs dilutions adéquates (selon le type, source et dilution) et pendent. On applique de 100 à 300 µl de l'anticorps primaire **(annexe)** prédilué jusqu'à bien recouvrir le tissu dans la zone limitée sur les lames puis les incubées pendent une durée de 30 à 60 minutes à l'abri de la lumière. Ensuite, rincée les lames dans deux bains de PBS pendent cinq minutes à chaque bain pour éliminer l'excès d'anticorps primaire. Puis appliquer quelque goutte de Post-primary pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. Les lames sont rances deux fois dans le PBS, cinq minutes pour chacun.

c. Amplification

Après le rinçage, on remet les lames sur la plaque humide pour appliquer HRP de 100 à 200 µl pendent 30 minutes de temps (constituer de l'anticorps secondaire couplé à la biotine, streptavidine-peroxydase) en respectant la seule condition qui est gardé les lames en obscurité (à l'abri de la lumière).puis faire repasser les lames dans les deux bains de la solution tamponnée de lavage PBS pendent cinq minutes pour chacun.

d. Révélation du complexe avec un chromogène

Cette étape consiste à utiliser un révélateur nommé DAB/Chromogène, pour préparer cela il faut réaliser une dilution qui est comme suit : 1ml de DAB + une goutte de chromogène. Le substrat va être dégradé par la peroxydase

endogène et le produit va être coloré. Mettre quelques gouttes de ce révélateur sur notre échantillon, et le laisser réagir pendant 5 à 8 minutes dans un endroit obscur et pour s'assurer qu'une bonne réaction s'est présentée, une coloration marron apparaitra et qui signifie la positivité du prélèvement. Ensuite passer au rinçage par deux bains de PBS pendant cinq minutes à chaque bain, pour stoppée la réaction et éliminer tout excès de DAB.

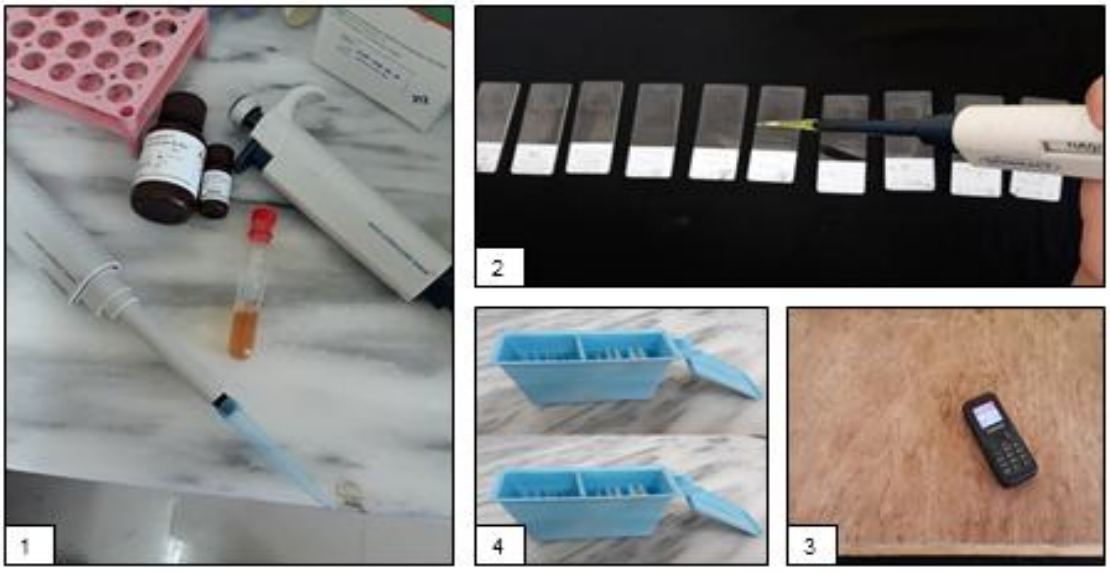


Figure 30 : Technique de révélation du complexe avec un chromogène ***(originale).***

e. Contre coloration à l'Hématoxyline de Meyer

Elle permet de visualiser les noyaux des cellules et cela est grâce à une réaction basophile entre le noyau acide (acides nucléiques) et le colorant basique d'Hématoxyline de Meyer.

Dans cette étapes, les coupes marquées sont contre colorées par l'Hématoxyline de Meyer pendant 2 à 5 minutes, ensuite elles sont lavées à l'eau courante plusieurs fois puis à l'eau distillée pendant 3 minutes, ensuite rincer à l'eau ammoniaquée (ammoniaque hydrogène NH_3) pendant une minute puis à l'eau distillée pendant cinq minutes

f. Montage des coupes

Déshydrater les lames dans quatre bains d'alcool de concentration croissante ; un bain de 70°, 90° ,100°, 100° pendant trois minutes pour chacun puis éclaircir dans deux bains de xylène pendant trois minutes de temps pour

chacun. Le montage permet la protection mécanique des coupes et chimique des colorants. Il consiste à appliquer une lamelle sur une lame à l'aide d'un milieu de montage l'Eukitt, puis les lames montées sont séchées à l'air libre.

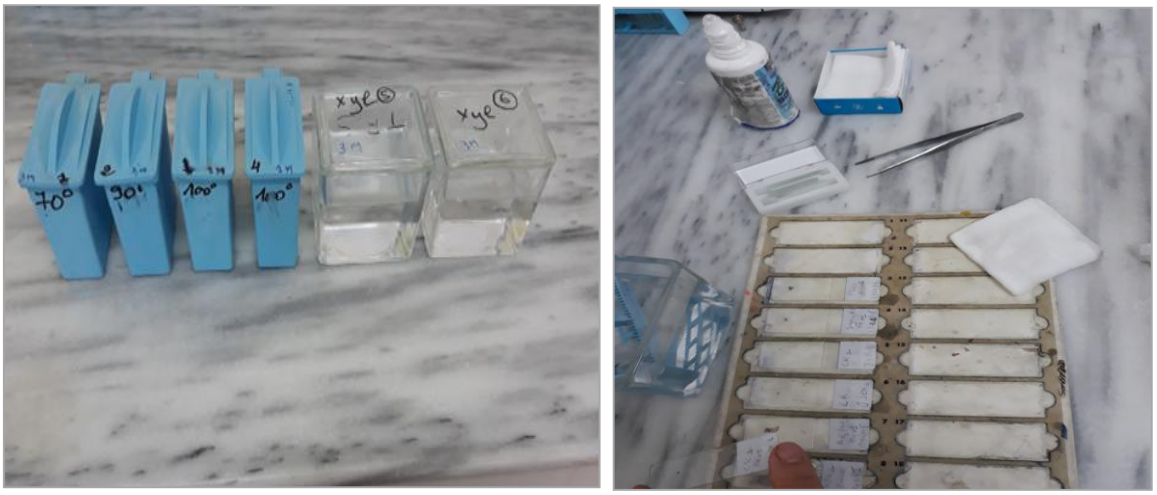


Figure 31 : Batterie et technique du montage ***(originale).***

II.3.3.3. Etude morpho métrique

L'étude morphométrique des follicules ovarienne doit être effectue par le logiciel « UTHSCSA Image Tool (version 3.00) ».

Les images des follicules ont été prises à l'aide une caméra numérique adaptable au microscope. Les diamètres ont été mesurés à l'aide du logiciel de morphométrie Image Tool, Pour chaque type folliculaire, les follicules de 3 ovaires de la gerboise déserticole ont été mesurés. Ces mesures vont être exprimées par un graphique.

II.3.4. Observation Microscopique et acquisition des images

Les coupes réalisées, ont été observé au microscope photonique à différents grossissements, ensuite la prise des photos a été réalisée par une caméra numérique, adaptable au microscope utilisé.

II.3.5. Analyse microscopique et acquisition d'image

Après séchage pendant plus de 24h, les lames sont observées au microscope photonique. Les images d'histologie sont visualisées sur ordinateur à l'aide d'une caméra numérique relié au microscope.

CHAPITRE IV : DISCUSSION

Nous avons choisi dans notre étude, de réaliser une série de techniques ; histologique, morphométrique et immuno-histochimique de l'ovaire de la gerboise déserticole *Jaculus jaculus* ***(Linnaeus, 1766)*** pour la première fois.

La contribution anatomique, histologique, morphométrique et histochimique de l'ovaire de la gerboise déserticole nous ont permis à la fois de comprendre l'aspect, l'architecture et le fonctionnement de l'ovaire, et de caractériser ses composants cellulaire ainsi que de déduire leur activité reproductive.

I. Anatomie et histologie de l'ovaire de la gerboise déserticole

Concernant la structure générale, nos résultats anatomiques montrent que les ovaires de la gerboise déserticole sont logés dans la cavité pelvienne de l'animale, ils sont entouré par une masse importante de tissu adipeux. Ils sont de couleur blanchâtre à l'état frais à marron pâle à l'état fixé. Ils prennent la forme d'un haricot ayant des fentes au niveau du hile.

Au niveau du hile, s'observe l'attachement avec le premier segment du tractus génital : l'oviducte qui est très sinueux.

Les oviductes et les cornes utérines semblent prendre une partie importante du tractus génitale femelle de la gerboise**.** De nombreuses saillies hétérogène et de différentes tailles, remplies de liquide, sont retrouvées à l'extérieure de l'ovaire, ces formations correspondent aux follicules ovariens.

L'utérus de la souris est double car les deux cornes sont séparées sur presque toute leur longueur et elles ne fusionnent dans leur trajet postérieur

qu'en un corps utérin court, qui communique avec le vagin par un seul orifice ***(Rousseau et Menezo, 1991).***

En effet, il est connu que chez les rongeurs (cobaye, hamster, souris, rat), les ovaires de petite taille ovoïdes, jaunâtres ou rosés sont situés au pôle postérieur du rein et entourés d'un corps adipeux ***(Gayrard, 2015).***

Chez le cobaye, chaque trompe dessine des replis en guirlande autour d'un ovaire ovoïde, trapu, sur lequel on peut apercevoir nettement des follicules, même à l'œil nu ***(Popesko et all ,1992).***

Chez les hamsters, Les ovaires sont ovales et se situent dorso-latéralement dans la cavité abdominale latéralement aux reins. Ils portent des follicules visibles à l'œil nu et sont complètement enfermés dans une bourse ovarique entièrement graisseuse ***(Popesko et all ,1992).***

Chez la rate, Les ovaires sont situés juste en arrière des reins. Ils sont ovales et aplatis. Leur surface est bosselée ***(Luksenberg, 2004).***

Chez la gerbille, L'appareil reproducteur femelle présentent les mêmes distinctions anatomiques que les rats et les souris ***(Barniol, 2004).*** Elle est présente peu de tissu adipeux ***(Colambani, 2000).***

Chez la rate et la souris, les cornes qui prolongent celui-ci se dirigent vers le rein. Un large dépôt de gras s'accumule entre les deux feuillets du ligament large ***(Hoffmann, 1963).***

Chez les chinchillas (rongeurs), Les deux ovaires ont la taille d'un grain de riz. Leurs poids augmentent avec le statut de la femelle. Chaque ovaire se poursuit caudalement par un oviducte très contourné et difficilement visible macroscopiquement ***(Barniol, 2004).***

Les oviductes chez le hamster sont longs et fermement enroulés. Comme chez le rat et le cobaye, l'artère utérine fournit une grande partie du sang assurant la vascularisation de la gonade ***(Popesko et all ,1992).***

Nos résultats histologiques par les différent colorations sur les coupes de l'ovaire de la gerboise déserticole, nous a fait permit de mettre en évidence ses différents composants ; l'ovaire de la gerboise déserticole est un organe hétérogène, composé d'une population de follicules à divers stades de développement. Il est forme d'une zone cortical et une zone médullaire présent de fentes.

Chez la plupart des rongeurs, les ovaires sont formés d'une couche centrale : la zone vasculaire ou médulla et d'une couche périphérique : la zone parenchymateuse ou cortex. Les follicules ovariens et les corps jaunes se localisent dans le cortex. Les ovaires de la rate sont muriformes et rattachés aux cornes utérines via les oviductes ***(Waynforth et Flecknell, 1992).*** Lis ont deux faces, deux bords, deux extrémités et un hile qui permet le passage des vaisseaux sanguins.

Ainsi que, les follicules de différentes populations, peuplent l'ovaire de la gerboise déserticole et présentent une distribution hétérogène et parfois homogène pour les follicules primordiaux sous formes d'amas dans déférentes zone de l'ovaire, ces amas établissent des relations structurales avec des cellules ovariennes retrouvées dans le parenchyme de l'ovaire et/ou entre l'épithélium germinatif ovarien et les cellules parenchymateuses**.** Il est bien évident de retrouver des follicules qui s'éloignent les uns aux autres et d'autre qui sont proches même structuralement**.**

Le follicule ovarien est l'unité fonctionnelle de l'ovaire. Ce dernier représente la gonade femelle, c'est-à-dire la réserve de cellules germinales permettant la reproduction ***(Thibault et Levasseur, 2001).***

Les ovaires sont entourés par des tissus de différentes nature, et qui ont pour fonction différente ; le tissu adipeux avec un volume important. Une autre zone de l'ovaire de la gerboise déserticole s'attache avec la frange. Chez la souris, les deux oviductes sont des structures tortueuses qui constituent des extensions de l'utérus vers la région ovarienne. Ils assurent la fécondation, le transport des gamètes mâles et, en cas de fécondation ***(Vaissaire, 1977).*** Puis, la zone d'insertion du ligament à l'ovaire qui prenant une grande distance d'attachement. L'épithélium germinatif de l'ovaire et de type pavimenteux stratifié ainsi que celui de l'oviducte est prismatique simple.

Les follicules ovarienne chez la gerboise déserticole, selon leur stade de maturation présentent différents forme et nombre de cellules folliculaires ; les follicules primordiaux sont mois matures présentent une forme cellulaire aplatie, de nombre de quatre (04) à dix (10) cellules. Les follicules primaires sont de stade plus mature que le précédent, ils possèdent des cellules de forme cubique. Les follicules secondaires ayant des cellules de forme cubique en plus grand nombre. Notant ici, que d'autre sont des phases intermédiaires entre secondaire et tertiaire. Le dernier groupe retrouvé est de type antral en plein maturité, possédant une cavité liquidienne qui pousse l'ovocyte à un de ces coté, ce qui indique qu'il y a une activité reproductive.

II. Morphométries des follicules

Nos résultats morpho-métrique montrent que les follicules ovariens de la gerboise déserticole sont présents à différents stades de maturité aux déférents diamètres parallèlement, ceci est reflété par leurs tailles hétérogènes retrouvées. Elles ont été divisées en trois (03) groupe selon le diamètre ; les jeunes follicules ayant un diamètre 2.44 ± 0.36 µm. les moyennement mature dont le diamètre est de : 8.57 ± 0.37 µm. les follicules matures dont le diamètre est de 13.37 ± 0.50 µm.

Le cycle folliculaire évolue des follicules primordiaux, aux follicules préantraux puis lacunaires jusqu'aux grands follicules antraux de diamètre moyen spécifique de 518 ± 257 µm, chez des femelles du *Psammomys obesus*, exprime que la folliculogenèse évolue de façon active ***(Boubekri et Gernigon, 2013).***

Après activation, les follicules primordiaux **(Lundy et al. 1999)** se transforment en follicules primaires. Le développement se poursuit avec la prolifération des cellules de granulosa et conduit à la formation des follicules secondaires > 75 µm chez la souris ***(Pan et al. 2005)***. Le développement folliculaire continuée jusqu'au stade des follicules antraux.

Les résultats ont montré qu'il y a une présence des déférents stades folliculaire de déférant diamètre et surtout mature ce qui montre qu'il y a une activité ovarienne donc activité reproductive.

III. Immuno-marquage des œstrogènes

La technique d'immuno-histochimie a permis de mettre en évidence la présence de l'œstrogène au niveau de l'ovaire de la gerboise déserticole**.** Le marquage semble être positif au niveau de certaines cellules extra-folliculaires parenchymateuses**,** au niveau de la partie extérieur de la thèque folliculaire et au niveau de la partie interne du follicule antral.

Les androgènes agissent dans le follicule via la liaison du récepteur aux androgènes, exprimé dans les cellules de la granulosa à partir du début de la phase antrale avant de décliner lors de la phase pré-ovulatoire ***(Hillier, 2001).***

L'expression du récepteur aux androgènes dans les cellules de la granulosa chez le rat se fait sous forme de gradient, hautement exprimé dans les cellules du cumulus et les cellules de la granulosa antrales et plus

Faiblement dans les cellules de la granulosa périphériques ***(Drummond, 2006).***

La ciliogenèse est stimulée par l'élévation des taux d'oestrogènes circulants. Les cellules sécrétrices se développent et grossissent sous l'influence de la progestérone. Leurs sécrétions permettent la capacitation des spermatozoïdes et la nutrition de l'œuf ***(Banks, 1993).***

Pendant la phase folliculaire (proestrus) la production d'œstrogènes augmente. La croissance des follicules cavitaires s'accompagne d'une élévation progressive de la production d'œstradiol. L'œstrogène augmente rapidement en fin de phase folliculaire pour atteindre un maximum avant

L'ovulation (pic pré ovulatoire). II y a peu de progestérone produite et un peu d'inhibine. La rétroaction positive des œstrogènes plasmatiques induit une forte stimulation des sécrétions de GnRH, FSH et LH. Ceci conduit à un pic de LH très important, et dans une moindre mesure à un pic de FSH. Le pic de LH a pour conséquence de déclencher l'ovulation ***(Kengni, 2006).***

Le follicule ovarien soutient les fonctions physiologiques principales de l'ovaire, tel que la synthèse des hormones stéroïdiennes, le soutient de la croissance de l'ovocyte, l'ovulation au moment requis d'un ovule mature et le maintien de la gestation. Ces fonctions sont modulées par la complexe interaction des signaux endocriniens (système nerveux centrale ou du tissu adipeux), paracrines (cellules du follicule ovarien entre elles) et autocrines (cellules du follicule ovarien sur elle-même) ***(Thibault et Levasseur, 2001).***

Les résultats ont montré qu'il y a une réaction positif peut confirmer la présence d'estrogène au niveau de l'ovaire de la gerboise déserticole donc l'existence d'une activité folliculaires et ovariennes.

CHAPITRE III : RÉSULTATS

Ce travail rapporte pour la première fois des observations macroscopique et microscopique de la gonade femelle de la gerboise déserticole.

Dans le but de mettre en évidence la structure générale et l'organisation topographique des différentes structures anatomiques et fonctionnelles de l'ovaire de la gerboise, nous avons réalisé une série de techniques, qui nous ont permis de révéler plusieurs informations importantes sur l'organisation structurale de cette gonade.

I. Organisation générale de l'ovaire de la gerboise déserticole

Les ovaires de la gerboise déserticole **(fig.32),** sont logés dans la cavité pelvienne de l'animale, ils sont entouré par une masse importante de tissu adipeux **(fig.32A).**

Dégagés de leur emplacement et du tissu adipeux **(fig.32B)**, les ovaires sont de couleur blanchâtre à l'état frais à marron pâle à l'état fixé. Ils prennent la forme d'un haricot ayant des fentes au niveau du hile **(fig.32C et D).**

Les oviductes et les cornes utérines semblent prendre une partie importante du tractus génitale femelle **(fig.32B).**

Au niveau du hile, s'observe l'attachement avec le premier segment du tractus génital : l'oviducte qui est très sinueux **(fig.32C).**

De nombreuses saillies hétérogène et de différentes tailles, remplies de liquide, sont retrouvées à l'extérieure de l'ovaire, ces formations correspondent aux follicules ovariens **(fig.32D)**.

FIG32

II. Micro-anatomie de l'ovaire et des structures adjacentes

II.1. Micro-anatomie du parenchyme ovarien

L'ovaire de la gerboise déserticole a été exploré par différent colorations : trichrome de Masson **(fig.33A et C)**, la fuschine ponceau, **(fig.33B)** et l'hematoxyline **(fig.33D).**

Des coupes ont permis de mettre en évidence les différents composants de l'ovaire dont les plus remarquables sont le nombre important des follicules et qui semblent être en différents stades de maturation.

Une coupe qui ne passe pas par la région du hile colorée par la coloration de trichrome mis en évidence la région médullaire et corticale **(fig.33A).**

L'ovaire coupé dans la région du hile montre la présence de fentes, qui prennent leur origine profondément dans la partie médiane de l'ovaire **(fig.33B, C, D)**.

Des follicules de différentes populations, peuplent l'ovaire et présentent une distribution homogène pour les follicules primordiaux ayant des tailles rapprochées **(fig.33A),** et parfois hétérogène ayant des taille très différentes **(fig.33C).**

Il est bien évident dans l'ovaire de la gerboise déserticole de retrouver des follicules qui s'éloignent les uns aux autres et d'autre qui sont proches même structuralement (**fig.33C, B, D).**

FIG33

II.2. Micro-anatomie des structures adjacentes à l'ovaire

Les ovaires sont entourés par des tissus de différentes natures (**fig.34),** et qui ont pour fonction différente. La figure 34A, montre l'insertion du ligament à l'ovaire prenant une petite distance d'attachement **(fig.34A).**

Un autre type de tissu est retrouvé, le tissu adipeux **(fig.34A**). Il est à retenir dans ici que le volume de ce type de tissu est important et que la majorité de ce dernier a été enlevée pendant la dissection.

Dans une autre zone de l'ovaire s'attache le premier segment du tractus, à savoir la frange **(fig.34B**).

Le premier segment de l'oviducte est démontré dans la figure (**fig.34C**), l'espace entre les deux structures semble restreint, et est différencié par leurs deux épithéliums différents mais parallèles mais qui semblent se buter contre les parois de l'un à l'autre.

La microstructure de l'ovaire et de ses structures adjacentes est plus mise en détail à des plus forts grossissements **(fig.35)**.

L'aspect des populations hétérogènes des follicules est démontré **(fig.35A et B),** ainsi que la relation structurale de l'ovaire avec le premier segment du tractus (l'oviducte) **(fig.35 B).**

L'épithélium germinatif de l'ovaire et de type pavimenteux stratifié ainsi que celui de l'oviducte est prismatique simple **(fig.35 C).**

A l'interface des deux épithéliums ovariens et de l'oviducte qui sont parallèle, il est noté la présence de follicules ovariens du côté de l'ovaire faisant face à l'oviducte (**fig.35 C).**

FIG34

FIG35

III. Follicules ovariens et distribution parenchymateuse

Des coupes au niveau de l'ovaire, coloré par la coloration de trichrome de Masson nous ont permis d'observer, une hétérogénéité de taille des follicules qui peuplent l'ovaire de la gerboise **(fig.36)**.

En effet, nous avons observé des populations de follicules dans des stades de maturation différents **(fig.36A et B)**.

La population des follicules de faible taille est regroupée sous forme d'amas dans différentes zones de l'ovaire.

Ces amas sont retrouvés contre la zone corticale de l'ovaire **(fig.36A)** et/ou entre des follicules à un stade plus mature et de plus grande taille **(fig.36B).**

Ces amas établissent des relations structurales avec des cellules ovariennes retrouvées dans le parenchyme de l'ovaire et/ou entre l'épithélium germinatif ovarien et les cellules parenchymateuses **(fig.36Cet D).**

Des follicules de faible taille sont retrouvés en étroite relation structural avec des follicules de plus grande taille (**fig.36E)** ou avec sa thèque **(fig.36F)**.

FIG36

IV. Aspect Fonctionnel de l'ovaire de la gerboise déserticole

IV.1. Aspects histologiques des follicules

Comme il a été mentionné en haut, les follicules ovariens sont présent à différents stades de maturité, ceci est reflété par leurs taille hétérogène retrouvée (voir plus loin).

En effet, la coloration de fuchsine ponceau a permet de démontrer plus de détaille sur les follicules **(fig.37).**

Les follicules selon leur stade de maturation présentent différents forme et nombre de cellules folliculaires. Ainsi les follicules mois matures présentent une forme cellulaire aplatie, de nombre de quatre (04) à dix (10) cellules, ce groupe forme les follicules primordiaux **(fig.37A).** Les follicules à un stade plus mature que le précédent, forme le groupe de follicules primaires, ils possèdent des cellules de forme cubique **(fig.37B et C).**

D'autres groupes sont retrouvés ayant des cellules de forme cubique en plus grand nombre se sont les follicules secondaires **(fig.37D et E).** Notant ici, que d'autre sont des phases intermédiaires entre secondaire et tertiaire.

Le dernier groupe retrouvé est de type antral en plein maturité, possédant une cavité liquidienne qui pousse l'ovocyte à un de ces coté **(fig.37F).**

IV.2. Morphométries des follicules

La figure 38, apporte des informations sur la taille dès les populations folliculaires retrouvées.

Elles ont été divisées en trois (03) groupe selon le diamètre : (I) les jeunes follicules ayant un diamètre 2.44± 0.36 µm. (II) les moyennement mature dont le diamètre est de : 8.57±0.37 µm. (III) les follicules matures dont le diamètre est de 13.37±0.50 µm.

(fig.37)

(fig.38)

IV.3. Mise en évidence de l'activité ovarienne par immunomarquage des œstrogènes

La technique d'immuno-histochimie a permit de mettre en évidence la présence de l'œstrogène au niveau de l'ovaire de la gerboise déserticole **(fig.39).**

Le marquage semble être positif au niveau de certaines cellules extra-folliculaires parenchymateuses **(fig.39A et B).**

Par ailleurs, ce marquage a été retrouvé au niveau de la partie extérieur de la thèque folliculaire **(fig.39C)** et au niveau de la partie interne du follicule renferment une collection liquidienne **(fig.39C).**

(Fig.39)

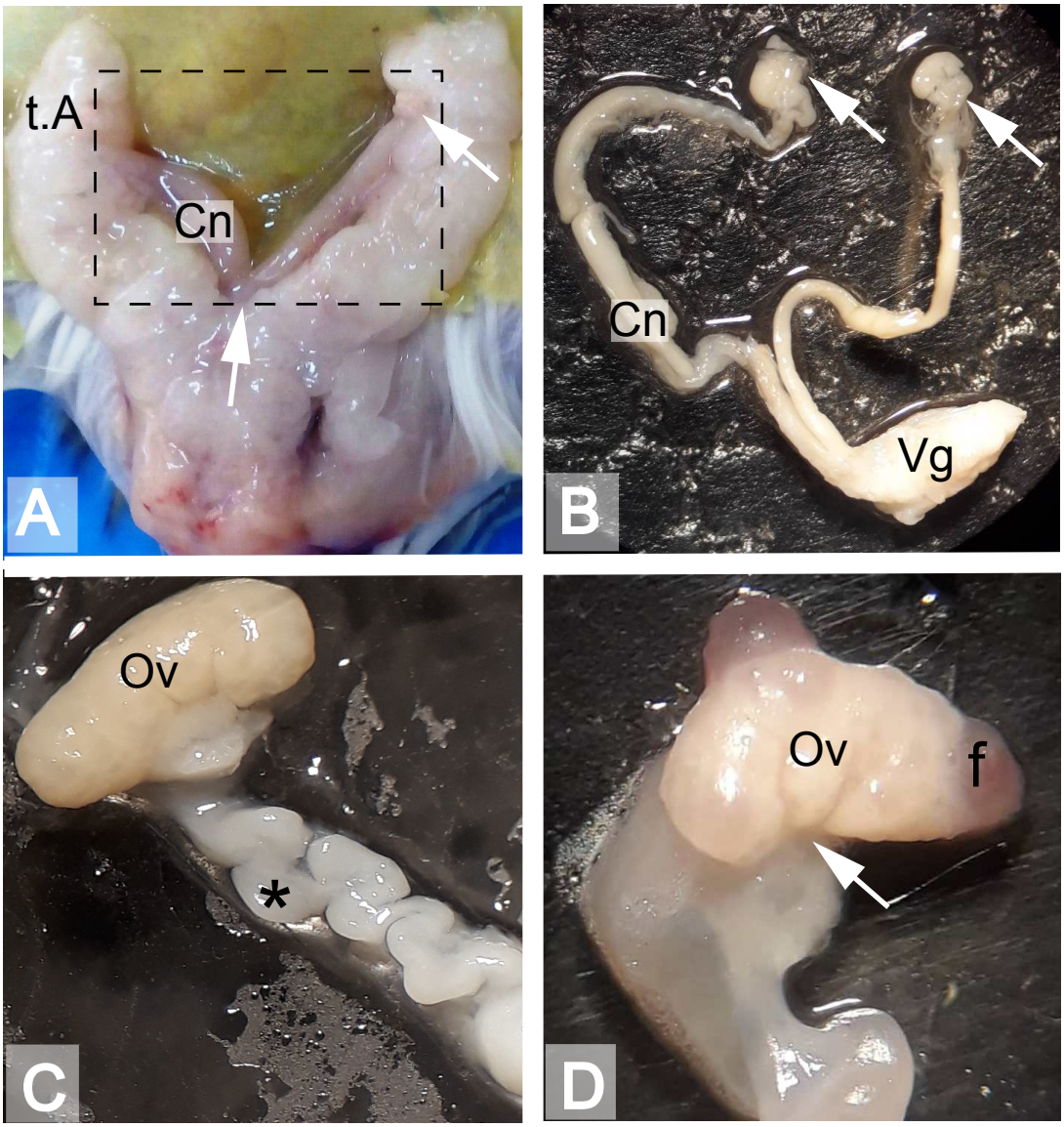


Figure 32. Anatomie de l'appareil génitale femelle de la gerboise déserticole

A. Appareil génitale (réctangle) au niveau de la cavité pelvienne de la femelle; deu parties sont bien observées l'ovaire (flèche) et les corne utérine (Cn).
B, C, D. Appereil génitale àprés dissection. Les fléches en B indiquent les ovaires, à noter les follicules en D en maturation. Ov: ovaire; Vg: vagin; f: follicule t.A: tissu adipeux.

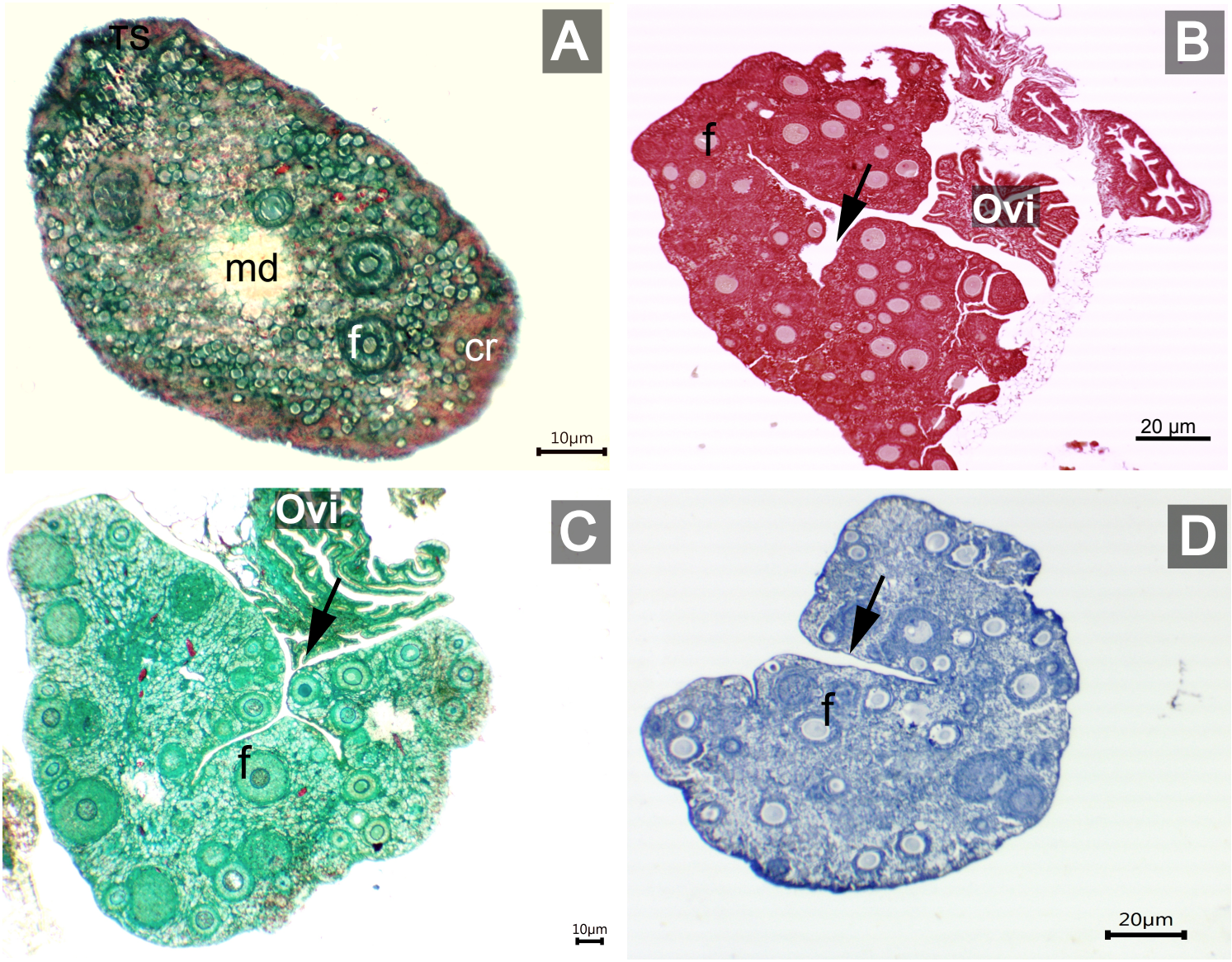


Figure 33. Structure générale des ovaires de la gerboise déserticole

A. Aspect histologique en faible grossissement, partie médullaire (md) et corticale (cr).
B, C, D. Ovaire à la partie médiane avec différentes colorations, noter l'aspect anatomique qui présente une fente centrale (flèches) et les follicules réparties à différentes régions. Ovi: oviducte.
A -C: Coloration trichrome de Masson; B: Fuschine ponceau; D: Hematoxyline.

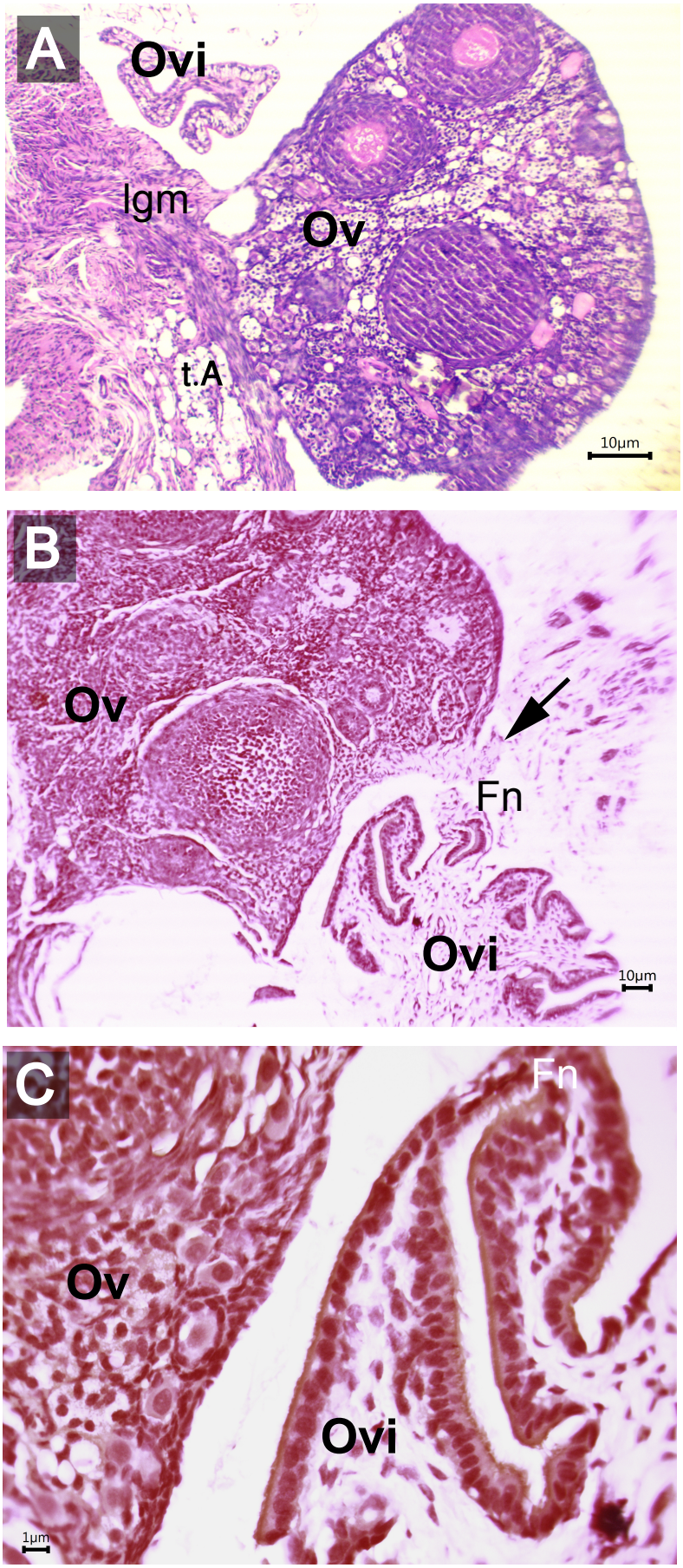


Figure 34. Points de contact de l'ovaire avec le tractus génitale femelle de la gerboise déserticole

A. Points de contact entre l'ovaire (Ov) et l'oviducte (Ovi) . lgm: ligament. **B, C.** En plus fort grossissement, contacte des oviductes par la frange (Fn) (Fléche). Cloration Hematoxyline & Eosine (A-B).t.A: tissu adipeux. Coloration Fuschine ponceau (C).

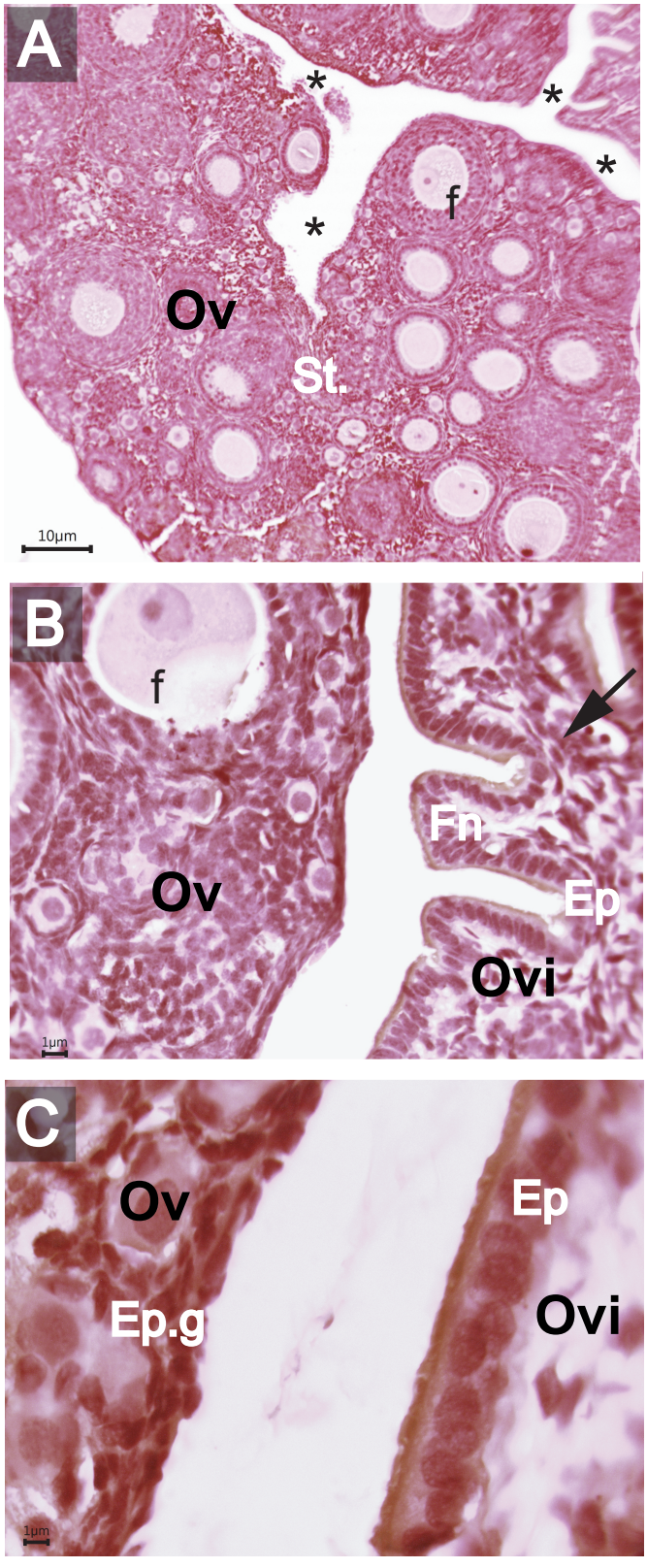


Figure 35. Microstructure de l'ovaire et les régions adjacentes du tractus génitale femelle de la gerboise déserticole

A. Stroma (St) ovarien (Ov) riche en follicules (f) de différents diamètres, les astérisques indiquent les fentes ovariennes.
B, C. En plus fort grossissement, l'interface entre l'ovaire et l'oviducte (Ovi) et sa frange (Fn), possédant un épithèlium (Ep) cylindrique monostratifié. Ep.g: épithelium germinatif pavimenteux stratifié. Coloration Fuschine ponceau.

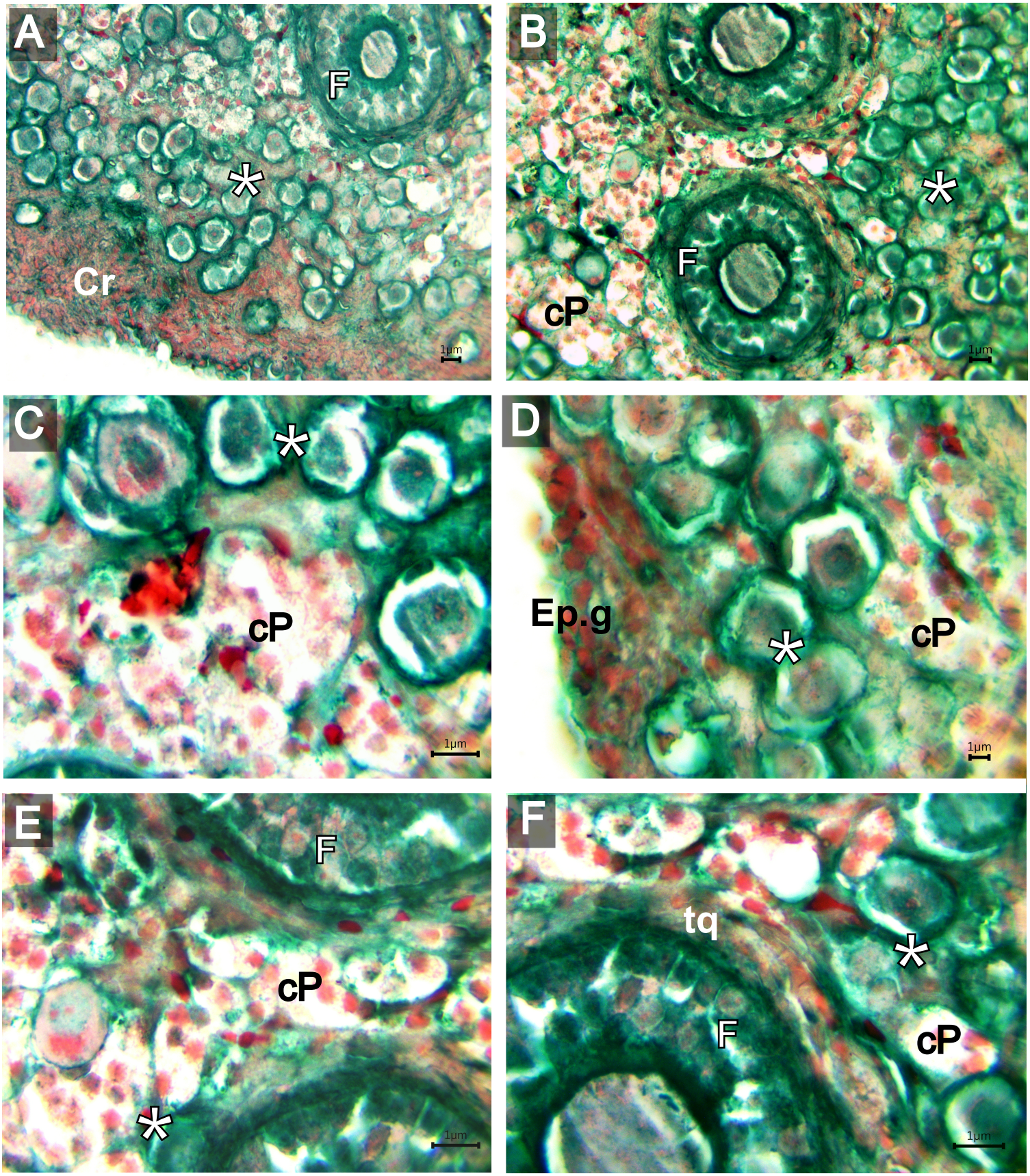


Figure 36. Répartition des follicules dans le parenchyme ovarien de la gerboise déserticole

A, B, C, D. Positionnement du pool de follicules primordiaux (astérisques) parraport aux différents éléments qui constituent le parenchyme ovarien. En A, position dans la partie corticale de l'ovaire (Cr) , en B entre les follicules en développement, en C entre les cellules parenchymateuses (cP), en D contre l'épithelium germinatif (Ep.g). **E, F.** contre le folicule ou sa thèque (tq). F: follicule. Coloration trichrome de Masson.

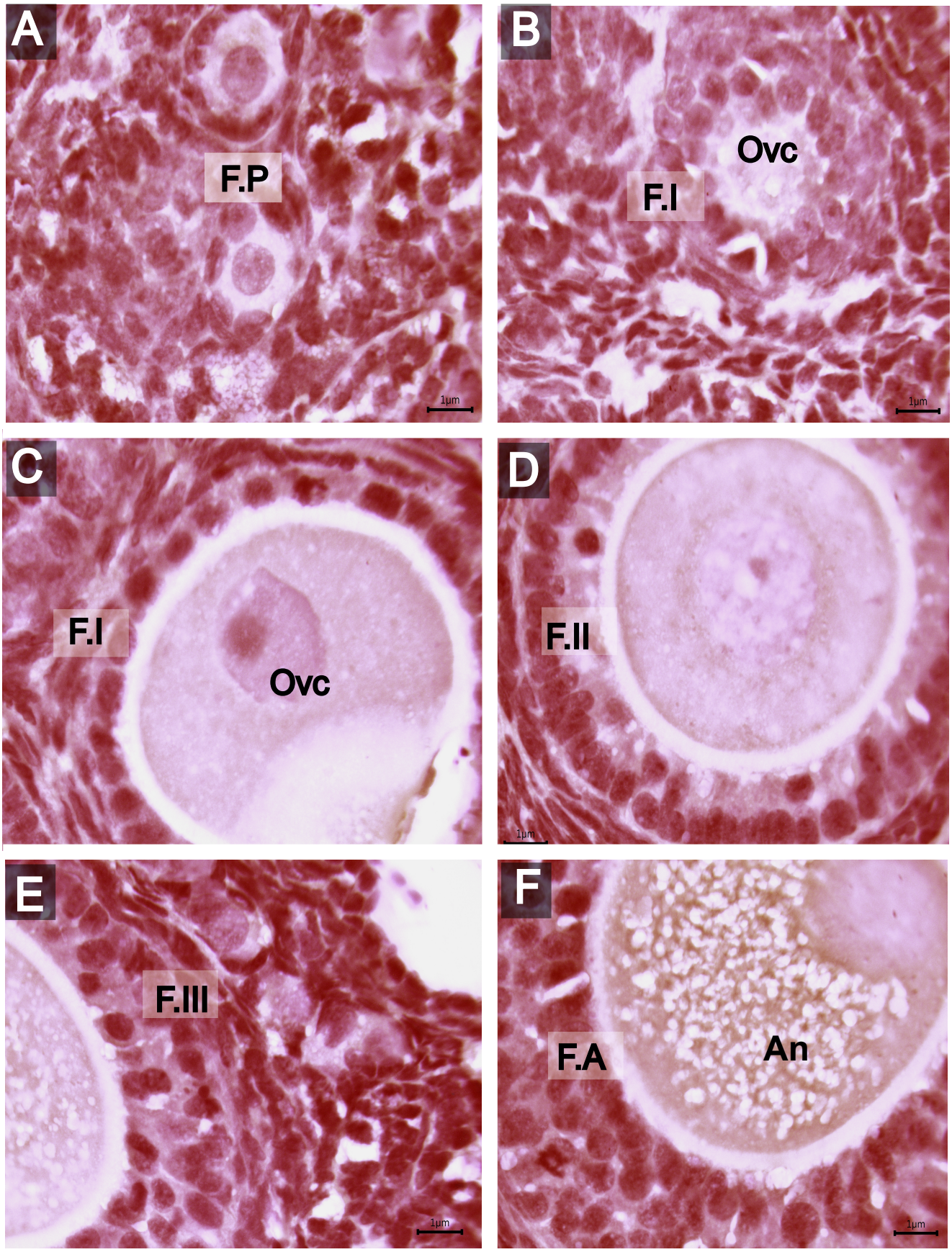


Figure 37. Différentes populations de follicules retrouveés dans l'ovaire de la gerboise déserticole

A. F.P: Follicule primordiale. **B, C.** Follicules primaires. **D.** Follicule secondaire **E.** Follicules tertiaire. **F.** Follicule antrale. Ovc: ovocyte; An: Antre. Coloration fuschine penceau.

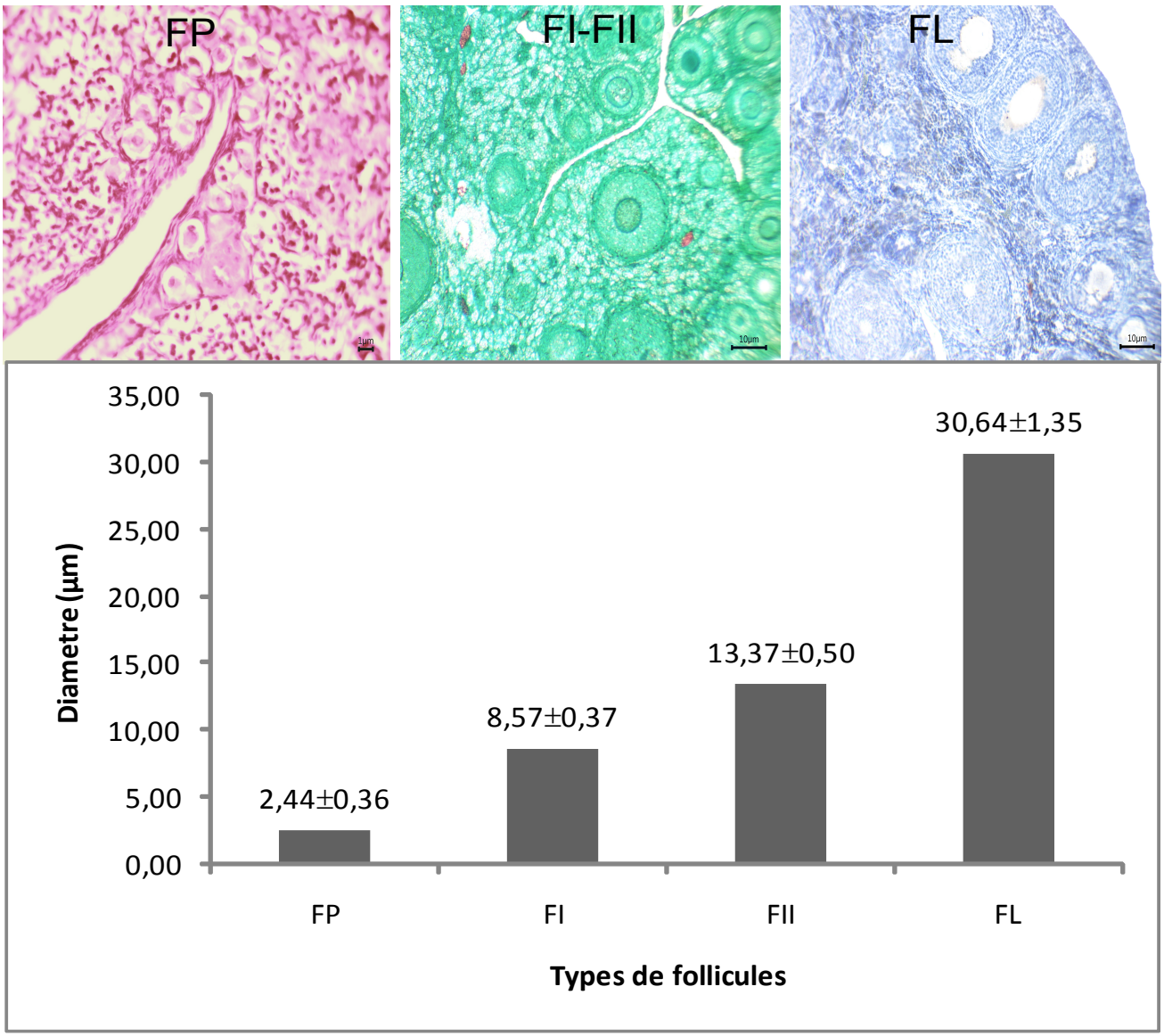


Figure 38 Groupes de follicules en fonction du diamétre

La morphométrie des follicules a caractérisé 4 groupes de follicules

FP: follicules primordiaux
FI: follicules primaires
FII: follicules secondaires
FL: follicule avec collection liquidienne.

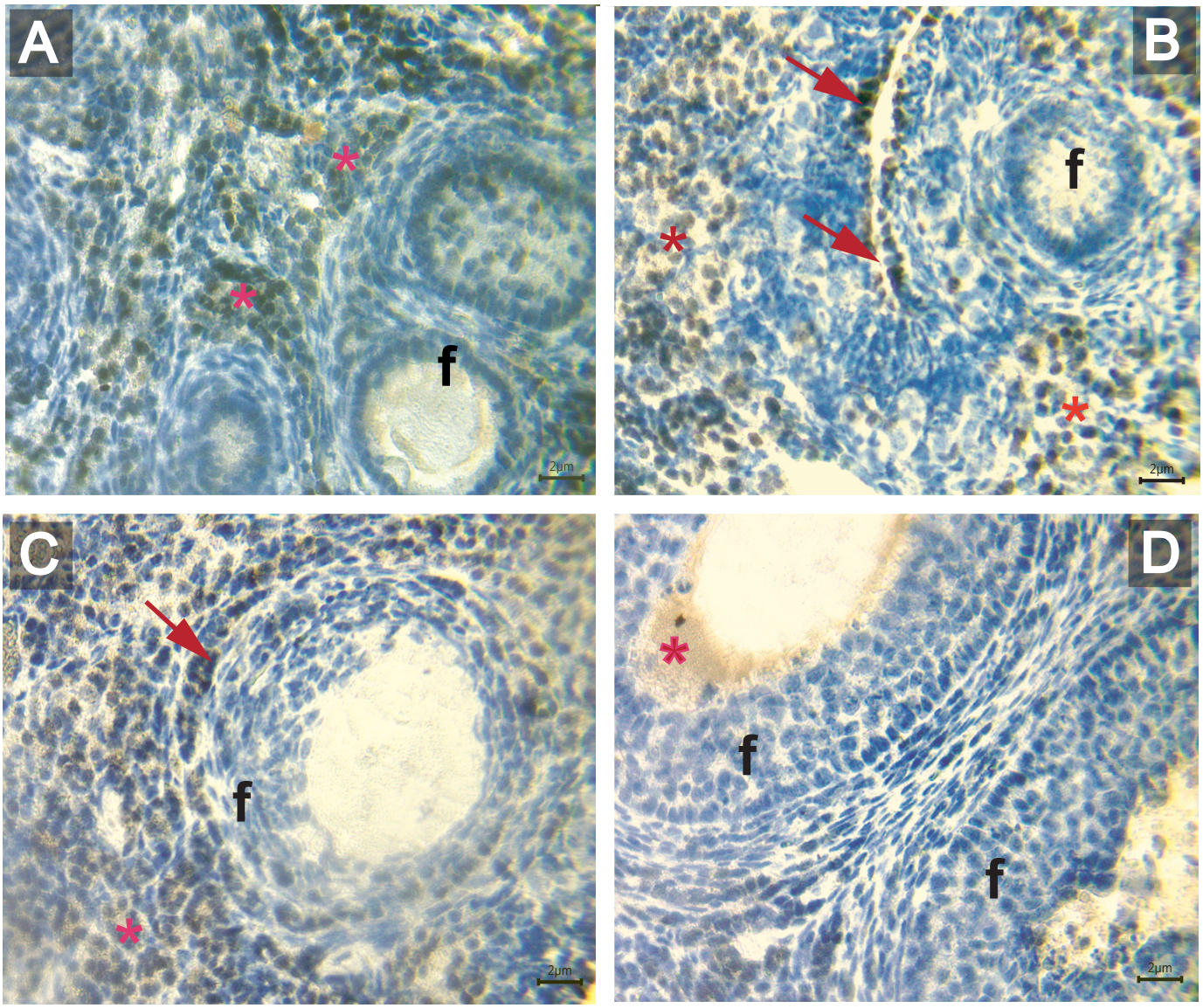


Figure 39. Immunomarquage de l'oestogène au niveau des ovaires de la gerboise déserticole

A. Plages d'immunomarquage positif dans les zones proches des follicules (astérisques).
B, C. Au plus fort grossissement le marquage semble être présent dans des cellules extra-folliculaires (fléches).
D. A noter que le marquage semble être présent à l'intérieur du follicule (astérisque).
f: follicule. Contre coloration Hematoxyline.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le but de cette étude était d'explorer l'ovaire de la gerboise déserticole (Jaculus jaculus), afin de mettre en évidence, son organisation, son architecture, et son activité, et par conséquent définir ses caractéristiques morpho-fonctionnelles.

Pour atteindre notre objectif, on a effectué trois techniques principales ; la coloration par l'hématoxyline de Meyer, Fuschine Penceau, Hématoxyline et trichrome de Masson. Puis, la morphométrie des follicules ovariens. Ainsi que, l'immuno-marquage par l'anti-oestrogène.

La première partie de notre étude portée sur l'histologie générale de l'ovaire de la gerboise déserticole, nous a permis de distinguer deux régions ; la région médullaire, située au centre de l'ovaire, est composée de tissu conjonctif et de vaisseaux sanguins, elle est présente de fentes , et la région corticale, représentant la couche superficielle, est constitué de tissus de soutien, elle est le siège du développement folliculaire. Le plus remarquable est le nombre important des follicules qui semblent être en différents stade de maturation peuplent l'ovaire par distribution hétérogènes avec des amas homogènes. Les ovaires de la gerboise déserticole sont entourés par des tissus de différentes natures, et qui ont pour fonction différente ; une zone d'insertion du ligament à l'ovaire, qui relie l'extrémité de l'ovaire à l'oviducte et au tissu adipeux, dans une autre zone s'attache avec la frange, c'est la jonction entre l'ovaire et l'oviducte. Un autre type de tissu est retrouvé avec un volume important, le tissu adipeux est un tissu de soutien. Cette étude nous a permis de montrer que l'épithélium germinatif de l'ovaire est de type pavimenteux stratifié ainsi celui de l'oviducte est prismatique simple. Le plus remarquable que, la population des follicules primordiaux est regroupées sous forme d'amas, ces amas établissent des relations structurales avec des cellules ovariennes retrouvées dans le parenchyme de l'ovaire et/ou entre l'épithélium

germinatif ovarien et les cellules parenchymateuses, qui sont retrouvées en étroite relation structural avec des follicules de plus grande taille ou avec sa thèque. Les follicules selon leurs stade de maturation présentent différents forme et nombre de cellules folliculaires ; les follicules primordiaux sont mois matures présentent une forme cellulaire aplatie, de nombre de quatre à dix cellules. Les follicules primaires sont plus matures que celles de stade précédant, ils possèdent des cellules de forme cubique. Les follicules secondaires ayant des cellules de forme cubique en plus grand nombre. Notamment que d'autre sont des phases intermédiaires entre secondaire et tertiaire. Le dernier stade retrouvé est de type antral en plein maturité, possédant une cavité liquidienne qui posse l'ovocyte à un de ces coté, Afin d'être prêt à l'ovulation. L'efficacité reproductive va dépendre de la taille du stock de follicules primordiaux et du bon déroulement de la folliculogenèse pendant toute la vie reproductive de la gerboise du désert.

Sur le plan morphométrique, une augmentation de diamètre (µm) des follicules selon leur type est constatée. Le diamètre des petits follicules primordiaux est atteint 2,44±0,36 µm de diamètre. Les grands follicules antraux atteint 30,64±1,35 µm de diamètre. Notant ici, que d'autres types moyens sont intermédiaires de décimètre. Cette proportionnalité entre le diamètre des follicules et leur type nous montre que l'ovaire témoigne du phénomène de la croissance folliculaire, ce qui indique que c'est en cas d'activité reproductive.

Ainsi, la présence des sécrétions de cellules endocrines d'œstrogène dans le parenchyme ovarienne chez la gerboise déserticole a été bien démontrée par l'utilisation du marqueur anti-estrogène. Cette étude immuno-histochimique a montré que le marquage a été trouvé positif au niveau de certaines cellules extra-folliculaires parenchymateuses, à l'extérieur de la thèque folliculaire, et au niveau de la partie interne des follicules antraux. Etymologiquement, le mot « œstrogène » vient d'ailleurs d'« œstrus » qui qualifie l'ensemble des phénomènes liés à l'ovulation, et du suffixe « -gène » qui signifier générer, provoquer. Le cycle ovarien s'accompagne d'un cycle des

hormones ovariennes : au cours de la phase folliculaire, la croissance des follicules déclenche une augmentation de la concentration d'œstrogènes, puis, l'arrivée à la maturité folliculaire provoque l'ovulation.

Afin de mieux comprendre la relation entre les différents éléments cellulaires ovariennes et d'exploré l'intérêt de la répartition des follicules primordiaux à la déférente situation anatomo-histologique dans l'ovaire de la gerboise déserticole et de mieux connaitre leurs cycle œstral, hormonal et reproductive, il serait intéressant d'utiliser des marqueurs spécifiques aux cellules endocrine ovarienne (Anti-Progestérone, Cytokératine 7, Inibine), et de réaliser le dosage hormonal (LH, FSH, Œstrogène, Progestérone). Aussi, d'étudier l'ovaire de la gerboise déserticole avec la microscopie électronique, qui fournit plus de détails sur les relations mécaniques et physiologiques entre les cellules.

ANNEXES I : PRODUITS ET TECHNIQUES.

1- Tableaux récapitulatifs des différentes étapes des techniques histologiques

Etape	Produits	Nombre de bains	Temps
Fixation	PAF 4%	/	24-48 heurs
Déshydratation	Alcool 70° Alcool 80° Alcool 90° Alcool 100°	1 Bain 1 Bain 1 Bain 3 Bains	1 H 1 H 1 H 1 H / Bain
Imprégnation	Xylène	3 Bains	1 H / Bain
Inclusion	Paraffine pure	2 Bains (à 60°C)	1 H 7 H
Coupes et étalement avec les lames gélatinées ou lames silanisées			

Coloration HE			
Déparaffinage	Xylène	1 Bain	20 min
Réhydratation	Alcool 100° Alcool 95° Alcool 70° Eau courante	1 Bain	1 min 30 sec 30 sec 10 min
Coloration	Hématoxyline (Harris) Eau courante Eau ammoniaquée Eau courante	1 Bain	30 sec 5 min 15 sec 5 min
	Eosine Eau courante	1 Bain	4 min 10 min
Déshydratation	Alcool 90°	1 Bain	30 sec
Éclaircissement	Xylène	1 Bain	20 min
Montage entre lame et lamelle à l'aide de l'Eukitt			

Coloration de Trichrome de Masson			
Déparaffinage	Xylène	2 Bains	7 min / Bain
Réhydratation	Alcool 100°	1 Bain	5 min / Bain

	Alcool 95° Alcool 70°		
Coloration	Hématoxyline Eau distillée	1 Bain	3 min Lavage
	Fuschine Ponceau Eau acétifiée	1 Bain 1 Bain	5 min Rinçage
	Acide Phosphomolybdique Eau acétifiée	1 Bain	5 min Rinçage
	Vert lumière Eau acétifiée	1 Bain	2 min Rinçage
Déshydratation	Alcool 100°	1 Bain	Passage
Éclaircissement	Xylène	1 Bain	Passage
Montage entre lame et lamelle à l'aide de l'Eukitt			

2- Table de dilution des alcools (la table Gal-Lussac)

Concentration finale d'alcool	Concentration initiale d'alcool	
	100°	96°
95°	06,50	01,25
90°	13,25	07,73
80°	28,59	22,45
70°	57,75	40,85
100 ml d'alcool initial pour obtenir la concentration désirée		

3- Préparation des lames gélatinées

Composition	Préparation
• 1,25 g Gélatine • 0,125 g Alun de chrome • q.s.p 250 ml H_2o distillée • 200 ml Alcool 95° • 1 ml Hcl	▪ Plonger les lames dans un bain composé d'alcool 95° et d'Hcl 1N. ▪ Laver les lames dans un détergent liquide. ▪ Rincer sous l'eau courante pendant 1 heure. ▪ Rincer à l'eau distillée. ▪ Chauffer le mélange eau distillée/alun de chrome/gélatine à 45°C, puis filtrer le mélange, le laisser refroidir. ▪ Tremper les lames en suite dans la solution préparée. ▪ Les lames sont par la suite mises à sécher dans l'étuve à 60°C, ou à l'air libre durant une nuit.

4- Préparation des solutions et colorants

Tampon phosphate 0,2 M, PH=7,4 (pour PAF à 4%)	
5,8 g	Phosphate disodique 12 H_2O
0,528 g	Phosphate monosodique
q.s.p 100 ml	Eau distillée
Tiédir légèrement sous l'eau courante jusqu'à dissolution des cristaux	

Solution de formaldéhyde à 8% à partir de paraformaldéhyde (pour PAF à 4%)	
• 1 Pastille de soude • q.s.p 100 ml H_2O distillée • 8 g de paraformaldéhyde	▪ Préparation d'une solution d'alcaline en dissolvant 1 pastille de soude dans 2-3 ml, d'eau distillée. ▪ Mettre 8 g de paraformaldéhyde en suspension dans 100 ml d'eau distillée. ▪ Sous hotte, chauffer la suspension sur un agitateur magnétique chauffant. ▪ Lorsque la suspension frémit (~80°C), ajouter quelques gouttes de la solution alcaline jusqu'à éclaircissement total du mélange, refroidir possible, ou conserver à 20°C en fonction prêtes à l'emploi.

Solution tamponnée de formaldéhyde 4% (PAF à 4%)	
• 1 Volume de formaldéhyde à 8% • 1 Volume de tampon phosphate 0,2M, PH=7,4	▪ Mélanger un volume de la solution foraldéhyde à 8% avec un volume de tampon phosphate 0,2M, PH=7,4.

Eosine (pour la coloration HE dans l'automate)		
Composition		**Préparation**
• 750 ml • 250 ml • 6 g • 2 gouttes • q.q gouttes	• Eau distillée • Alcool 95° • Eosine en poudre • Acide acétique • Thymol (conservateur)	▪ Mélanger les compositions pour obtenir la coloration d'éosine.

Eau ammoniaqué	
• q.s.p 300 ml • 3-5 gouttes	▪ Eau courante ▪ Ammoniaque

Tompans phosphates 0,1 M, PH=7,4 (liquide physiologique)	
• 1,64 g • 14 g • q.s.p 1L	▪ NaH_2PO_4 ▪ $NaHPO_4$, $2H_2O$ ▪ Eau distillée

Hématoxyline (pour la coloration de Trichrome de Masson)		
• 1 g • 250 ml	• Alun de chrome • Eau distillée	▪ Chauffer l'Eau distillée, ajouter l'alun de chrome et maitre à ébullition jusqu'en apparition de coloration verte. ▪ Après refroidissement, ajouter le mélange hématoxyline/acide sulfurique à 10%. ▪ Ajouter le bicarbonate de calcium au mélange. ▪ Porter le mélange des solutions, laisser refroidir, puis filtrer.
• 15 ml • 5 ml	• Hématoxyline • Acide sulfurique 10%	
• 0,55 ml	• $CaCo_3$	

Fuschine-Ponceau (pour la coloration de Trichrome de Masson)		
• 100 ml • 0,5 ml	• Fuschine acide • Acide acitique	▪ Préparer les deux solutions Fuschine et Ponceau. ▪ Mélanger un volume de la solution de Fuschine avec deux volumes de la solution de Ponceau.
• 1 g • 100 ml • 0,5 ml	• Ponceau • Eau distillée • Acide acitique	

Acide phosphomolybdique (pour la coloration de trichrome)		
• 3 g • 2 g • 100 ml	• Acide phosphomolybdique • Orange G • Eau distillée	▪ Mélanger pour obtenir une solution orange

Vert lumière (pour la coloration de Trichrome de Masson)		
• 1 g • 100 ml • 1 ml	• Vert lumière • Eau distillée • Acide acitique	▪ Mélanger pour obtenir une solution verte.

Acide sulfurique à 10% (pour préparer l'hématoxyline de Trichrome de Masson)	
• 10 ml • 90 ml	▪ Acide sulfurique ▪ Eau distillée

Eau acétifié (pour la coloration de Trichrome de Masson)	
• 100 ml • 900 ml	▪ Acide acétique ▪ Eau distillée

5- Tableaux récapitulatifs des produits et réactifs d'immunohistochimie

Fiche technique du PBS			
Code	**Intérêt**	**Composition**	**Préparation**
S3024	▪ Utiliser pour préparer des solutions tampon salines requises dans de nombreuses procédures immunohistochimiques .	• 9,4 g, Phosphate de sodium dibasique • 0,629 g, Phosphate de sodium monobasique • 18 g, Chlorure de sodium	▪ Dissoudre le contenu entier d'un paquet dans de l'eau distillée de manière à obtenir un volume total d'un litre de solution tampon saline de phosphate de PH=7. ▪ 11,6g de PBS dans 1L d'eau distillée.

Fiche technique :Bond Primary Antibody Diluent			
Référence	**Intérêt**	**Composition**	**Mode d'emploi**
AR9352	▪ Ce réactif est destiné au diagnostic in vitro. C'est un réactif prêt à l'emploi pour la dilution de concentrés d'anticorps primaires particuliers.	• une solution saline tamponnée • un agent tensioactif • un stabilisateur protéique et ProClin 950 à 0,35%.	▪ Diluer le concentré d'anticorps primaire à la concentration optimale avec le Bond Primary Antibody Diluent. Transférer l'anticorps dilué et l'utiliser comme le réactif d'anticorps primaire. ▪ Volume total = 500 m

Fiche technique : Novocastra™Epitope Retrieval Solutions(x 10 concentration)				
Références		**intérêts**	**Composition**	**Préparation**
PH=6	**RE7113**	▪ Ils sont destinés à la restauration de l'épitope induite par la chaleur sur des coupes tissulaires, dans le cadre d'une procédure immunohistochi-mique.	• Tampon citrate contenant un surfactant	▪ Lors de l'utilisation, préparer une solution de travail en diluant 1 partie de concentré avec 9 parties d'eau distillée. ▪ Faire chauffer jusqu'à ébullition au bain marie. Couvrir sans verrouiller le couvercle. ▪ Volume total 1L.

L'anticorps primaire utilisé : BOND Estrogen receptor 6F11					
Codes	**PH**	**Clone**	**Intérêt**	**Réactifs fournis**	**Dilution et Mélange**
PA0151	6	6F11	-L'anticorps monoclonal de souris est destiné à un usage de laboratoire pour identifier qualitativement l'œstrogène antigène du récepteur (ER) dans des coupes de tissus de cancer du sein. -Il se lie spécifiquement à l'antigène ER situé dans le noyau des cellules normales et néoplasiques ER-positives.	-L'anticorps monoclonal anti-humain de souris produit comme surnageant de culture tissulaire, et fourni en PBS avec protéine porteuse, contenant 0,35% de ProClinTM 950 comme conservateur. -Volume total = 7.	-C'est un Anticorps primaire prêt à l'emploi, il est dilué de manière optimale en combinaison avec Bond Polymer Refne Détection. -Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de coloration de l'antigène.

Le kit utilisé Novocastra™ : "Novolink™ Polymer Detection System (250 test)"							
Code	**Intérêt**	**Réactifs Fournis**					**Principe**
		Réactifs	**reference**	**contenu**	**quantities**	**dilution**	
RE7140-K		Peroxidase Block	RE7101	-Peroxyde d'hydrogène à 3-4 %	1 x 25m	Pré a l'utilisation	-Ces produits sont utilisés dans le cadre d'une procédure (IHC) qui permet une identification qualitative des antigènes par microscopie optique,

	Le Novolink™ Polymer Detection Systems sont destinés à la révélation des anticorps primaires de type IgG de souris, IgM de souris et IgG de lapin.	Protein Block	RE7102	-Caséine à 0,4 % dans une solution saline tampon phosphate, avec des agents de stabilisation, un surfactant, et un agent de conservation à 0,2 %, le Bronidox L.			dans des coupes fixées au formol, incluses en paraffine, par l'intermédiaire d'étapes séquentielles comportant des étapes de lavage. -Préalablement au marquage, les coupes sont soumises à une restauration des épitopes, si l'anticorps primaire le nécessite. -L'activité de la peroxydase endogène est neutralisée par le Peroxidase Block. Ceci est suivi par l'application du Protein Block afin de réduire la liaison non spécifique des anticorps primaire et secondaire. -Les coupes sont ensuite incubées avec un anticorps primaire dilué de façon optimale. - Post Primary (IgG de lapin anti-souris) est ensuite utilisé pour détecter les anticorps de souris.
		Post Primary	RE7111	-IgG de lapin anti-souris (<10 mg/mL) dans 10 % (v/v) de sérum animal dans une solution saline tamponnée de Tris/ ProClin™ 950 à 0,09 %.			
		Novolink™ Polymer	RE7112	-Poly-HRP-IgG anti-lapin (<25 µg/mL) contenant 10 % (v/v) de sérum animal dans une solution saline tamponnée de Tris/ProClin™ 950 à 0,09 %.			

		DAB Chromogen	RE7105	-1,74 % w/v 3,3' - diaminobenzidine, dans une solution stabilisante	1 x 3ml	-Le DAB Chromogen doit être dilué au 1/20 dans du Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) avant emploi. -(Ajouter 50µl de DAB Chromogen à 1 ml de Novolink™ DAB Substrate Buffer (Polymer)	-Le Novolink™ Polymer reconnaît les immunoglobulines de lapin, il détecte les anticorps post-primaires et tout anticorps primaire lié au tissu. -Les coupes sont ensuite incubées avec le substrat chromogène, la 3,3' - diaminobenzidine (DAB), préparé à partir du DAB Chromogen et du Novolink™ DAB Substrate Buffer (Polymer). - La réaction avec la peroxydase produit un précipité brun visible au niveau du site antigénique. -Les coupes font l'objet d'une coloration de contraste au Hématoxyline et sont placées sous une lamelle. - Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique.
		Novolink™ DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143	-Solution tamponnée contenant du peroxyde d'hydrogène à ≤0,1 % et un agent de conservation.	1 x 30ml	Pré a l'utilisation	
		Hematoxylin	RE7107	Hématoxyline à <0,1 %	1 x 25m		

ANNEXES II : APPAREILLAGES ET MATERIELS NON BIOLOGIQUES

- **Matériels non biologiques**

Appareillage	Matériel et verreries	Réactifs
» Automate de circulation Leica TP 102. » Console thermique SLEE » Distributeur de paraffine SLEE. » Plaque froide ou Plaque réfrigérante SLEE. » Microtome Leica RM2125RST. » Bain marie *NÜVE* bath. » Bain marie LAUDA Aqualine AL 12. » Réfrigérateur ENIEM. » Automate de coloration SLEE. » Hotte d'aspiration chimique SLEE. » Etuves (T°50, T°100) BINDER. » Plaque chauffante BANTE. » Balance OHAUS. » Microscope photonique Zeiss. » Appareil photo numérique Canon-Power. » Loupe CARL ZETSS.	» Cassettes. » Lames d'étalement STAIRWAY. » Lames silanisées Dako. » Lamelles KNITTEL. » Portes lames. » Trousse à dissection. » Moules en métal. » Plateaux. » Compresse. » Para film. » Stylo délimitant : DAKO pen. » Micropipettes de10 à 1000µl DRAGONLAB, avec cônes adaptables. » PH mètre. » Agitateur magnétique. » Minuterie. » Bacs en plastiques. » Bacs en verre. » Paniers à coloration. » Béchers. » Boîte de Petri. » Entonnoir. » Erlenmeyer. » Flacons. » Pipette Pasteur (micro-pipette). » Verre de montre. » Burette. » Éprouvette graduée. » Fiole jaugée. » Pipette. » Papier filtre. » Papier absorbant. » Papier joseph. » Tubes d'Eppendorfs. » Gants. » Blouse.	» PAF à 4%. » Alcool de 70° à 100°. » Xylène. » Paraffine. » Hématoxyline Harris. » Hématoxyline Mayer. » Eosine. » Eukitt Fluka. » Kit de révilation d'immunohistochimie (Novacastra). » L'anticorps (Bond ER). » Solution tompan PBS. » Solution d'épitope (PH ; 6) Novacastra. » Anticorps primaire Leica Bond. » PBS Dako. » Eau distillée. » Eau de robinet. » Chloroforme. » Vert lumière. » Fuschine. » Ponceau. » Acide phoshomolybdique. » Orange G. » Acide acétique. » Acide sulfurique. » Ammoniaque. » Hcl. » Alun de chrome. » Thymol. » Gélatine. » Phosphate disodique. » Phosphate monosodique.



❖ **Etuves (T°100) BINDER**



❖ **Etuves (T°50) BINDER**



❖ **Automate de circulation Leica TP 102**



❖ **Automate de coloration SLEE**



❖ **Console thermique, Distributeur de paraffine, Plaque réfrigérante « SLEE »**



❖ **Bain marie LAUDA Aqualine AL 12**



❖ **Bain marie *NÜVE bath***



❖ **Réfrigérateur ENIEM**



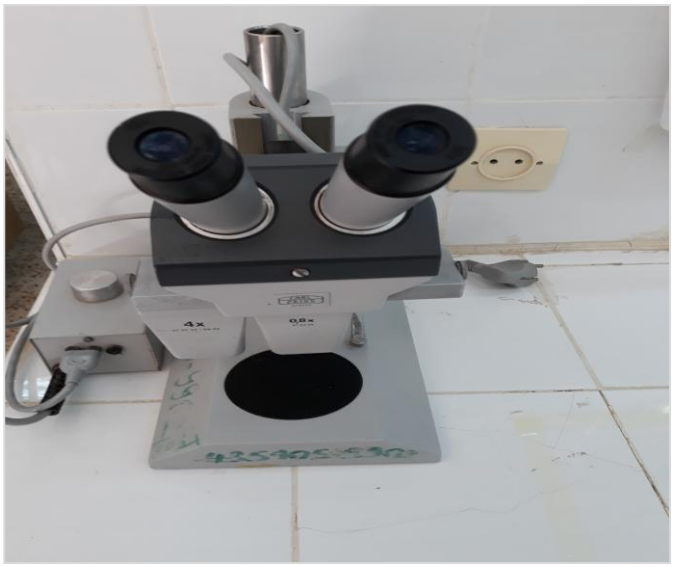
❖ **Microtome Leica RM2125RST**



❖ **Plaque chauffante BANTE**



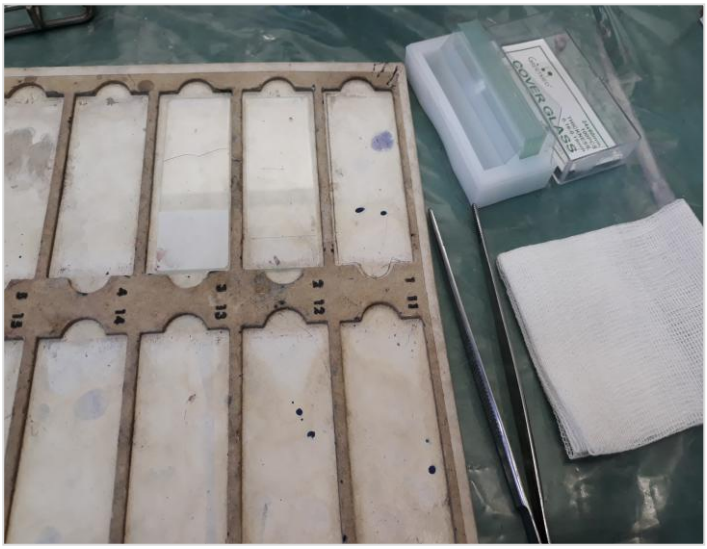
❖ **Balance OHAUS**



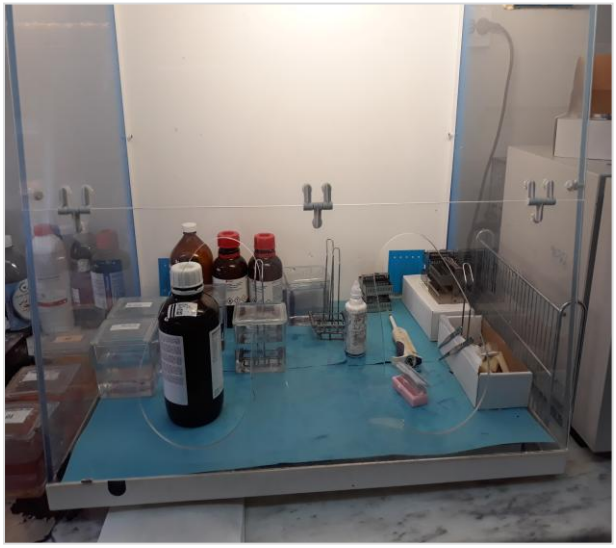
❖ **Loupe CARL ZETSS**



❖ **Microscope photonique Zeiss**



❖ **Plateaux, Lamelles KNITTEL, Compresse**



❖ **Hotte d'aspiration chimique SLEE**



❖ **Lames silanisées Dako**



❖ **Lames d'étalement STAIRWAY**



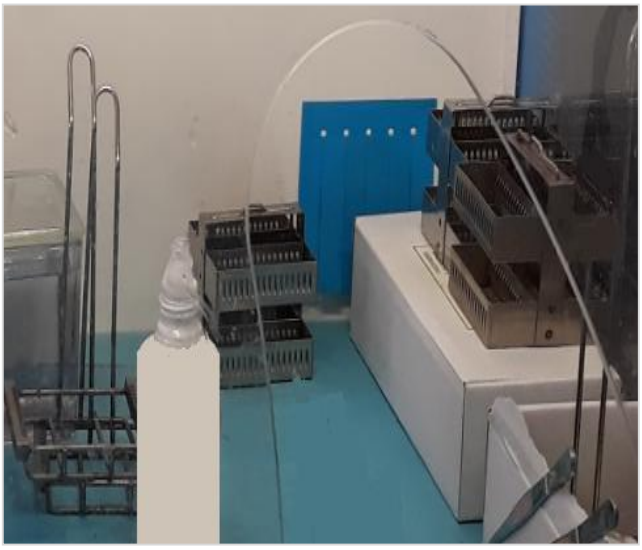
❖ **Cassettes**



❖ **Moules en métal**



❖ **Stylo diamants**



❖ **Portes lames**



❖ **Trousse à dissection**



❖ **Gants**



❖ **Micropipettes DRAGONLAB, cônes adaptables**



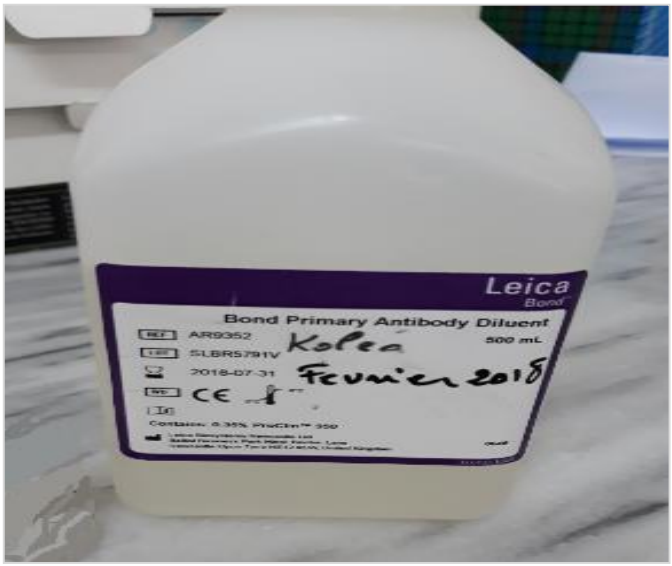
❖ **Stylo délimitant : DAKO Pen**



❖ **Kit de révilation Novacastra**



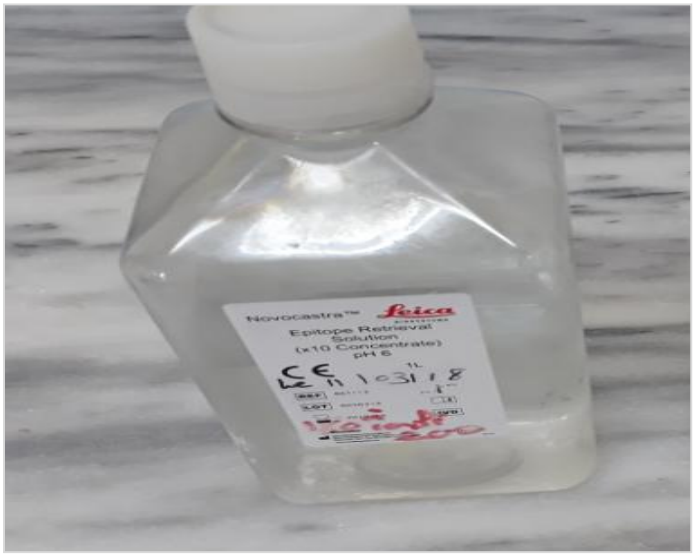
❖ **Anticorps :ER BOND**



❖ **Anticorps primaire Leica Bond**



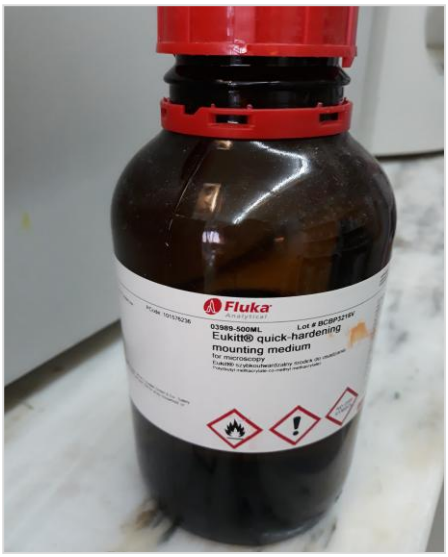
❖ **PBS Dako**



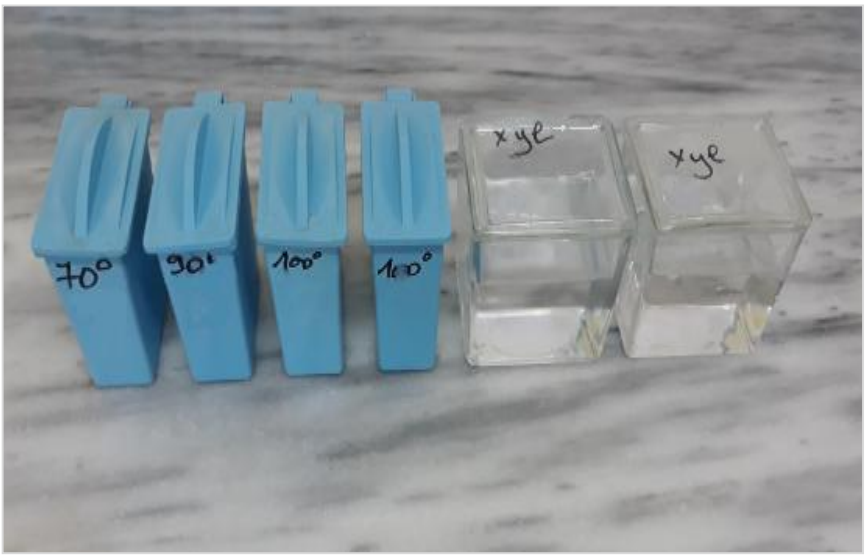
❖ **Solution d'épitope (PH ; 6) Novacastra**



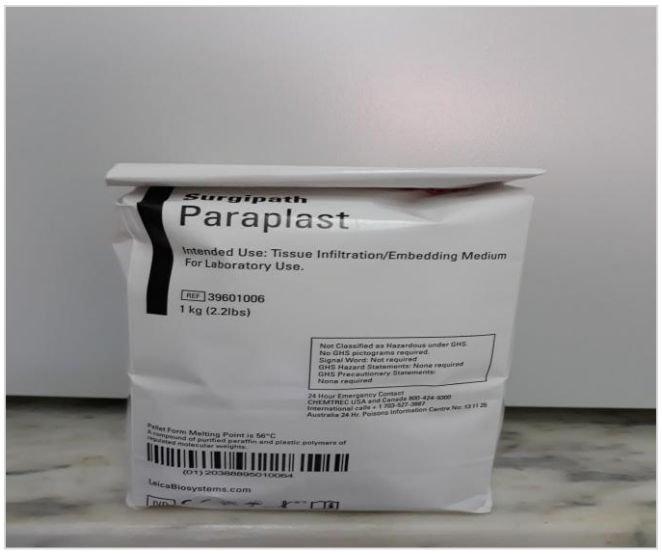
❖ **Solution tompan PBS**



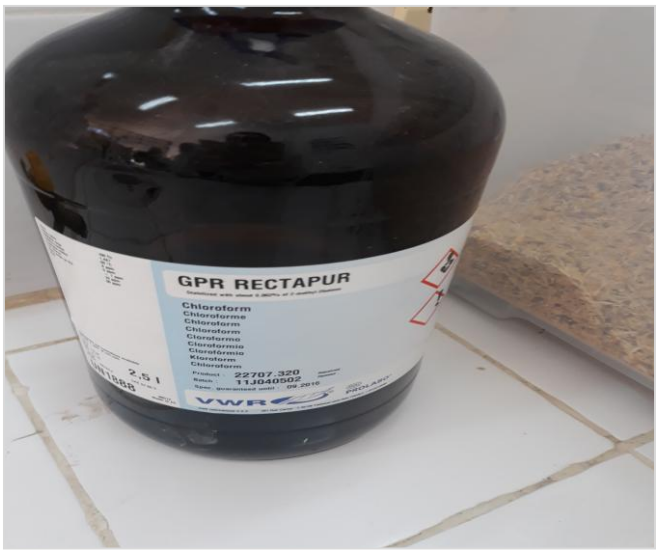
❖ **Eukitt Fluka**



❖ **Bacs en plastiques (Alcool), Bacs en verre (xylène)**



❖ **Paraffine**



❖ **Chloroforme**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Adams et all.,2008**: Adams, G., Jaiswal, R., Singh, J., & Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. Theriogenology, 69(1), 72-80.
- **Amori et al.,2016 :** AMORI,G.,HUTTERER,R. ,KRYSTUFEK,B.,YIGIT,N. ,MITSAIN,F. ,PALOMO,L.J.&AULAGNIER,S.2016.Jculus jaculus.The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e. T10912A115100630.
- **Anderson et Anderson, 1994:** ANDERSON & ANDERSON (1994) Atlas of Canine Anatomy, Philadelphie, LEA & FEBIGER, 1230 p.
- **Baddouri et al.,1985 :**Baddouri K., Elhilali M. et Lachiver F., 1985- Capacité d'économie en eau chez une espèce de rongeurs désertiques : Jaculus orientalis. Citat. Inform., Mammalia., 49 (4): 543-550.
- **Banks,1993 :**BANKS WJ. (1993) Female reproductive system. In : Applied veterinary histology. 3rd ed. St Louis: Mosby-Year book, Inc, 452-457.
- **Barinol, 2004** : BARNIOL K. Pathologie de la reproduction et de l'appareil urinaire chez les rongeurs,Thèse Méd. Vét. Toulouse, 2004, 211 pages.
- **Boubekri et Gernigon,2013**: BOUBEKRI A. & GERNIGON T.(2013). Influence des saisons sur la biologie de la reproduction du rat des sables du Sud-ouest Algérien. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, Faculté des Sciences Biologiques, (USTHB-FSB-LRZA). El Alia BP 32, Bab-Ezzouar 16 111.Alger, Algérie.
- **Brown et al., 1994 :** BROWN et al.,1994. Coexistence des Rongeurs du Désert du Neger. Ecologie 75 :2290-2207.
- **Brown et Richard, 2009:** BROWN, RICHARD W, Histologie preparations commons probems and Tbeir Solutions, North field,II, CAP Press,2009,156p.
- **Caron et al., 2009 :**CARON,Freida.,et CHRISTA, HLADIK.Histotechnology.ASCP Press,2009,400p.
- Clinical and laboratory standards instituté,quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry Assay;Approved

Fuideline-second Edition, **CLSI document** /ILA28-A2,Wayne,PA,CLSI,**2011**,135p.

- **Colambani, 2000 :** COLAMBANI J-M. La gerbille de Mongolie, Merinoes Unguiculatus, nouvel animal de compagnie, Thèse Méd. Vét. Lyon, 2000, 102 pages.
- **Derivaux,1971 :**DERIVAUX J, 1971.Reproduction chez les animaux Domestiques : Tome 1 et Tome 2 .-Liège : Edit.Dérouaux .- 157+171p.
- **Dieterlen,1993:** DIETERLEN F., 1993 –≪ Family Anomaluridae ≫.In Wilson D. E., Reeder D. A. M (eds) :Mammals of the world: a taxonomic and geographic reference,Washington and London, Smithsonian Institution Press : 757-758.
- **Driancourt et al ., 1998 :** DRIANCOURT M.A., GOUGEON A., MONNIAUX D., ROYERE D., THIBAULT C. (1998) La fonction ovarienne. La reproduction chez les mammifères et l'homme, coordonnateurs C. Thibault, M.C. Levasseur, Edition Ellipses, INRA 273-298, Paris.
- **Driancourt et al ., 2001 :** DRIANCOURT M.A., GOUGEON A., MONNIAUX D., ROYERE D., THIBAULT C.(2001) Folliculogenèse et ovulation In : THIBAULT C., LEVASSEUR M.C. (eds), La reproduction chez les mammifères et l'homme, Ellipse, Paris, 316-347.
- **Driancourt, 1997 :** DRIANCOURT M.A. (1997) Folliculogenèse in vitro : la femme n'est pas une souris ! Contracept Fertil Sex. 25:543-548.
- **Drummond, 2006:** Drummond, A. E. (2006). The role of steroids in follicular growth. Reprod Biol Endocrinol 4, 16.
- **Fortier et al., 2003 :**FORTIER, JACQUES C.,et René HOULD, Histotechnologie théorie et procédés, Montréal, Centre collégial de développement de matériel didactique,2003,717p.
- **Fortune, 2003:** Fortune JE. 2003. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. Animal Reproduction Science 78(3-4): 135-163.
- **Frank et al., 2006:** FRANK H. NETTER, CARLOS A. G. MACHADO, KIP CARTER Netter's Atlas of the Human Body ISBN 0-7641-5884-8, 2006.
- **Ganter et Jolles., 1970 :**GANTER P.,JOLLES G.(1970).Histologie Normale et Pathologique.Edition Gauthier-Villars.Vol.1-2.

- **Gayrard, 2015 :** GAYRARD V., Physiologie de la Reproduction des mammiferes domestiques, Ecole Nationale véterinaire de Toulouse-ENVT, 2015,9-13-25p.
- **Ginther, 1992:** GINTHER OJ (1992). Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Equiservia Publishing (éd), Cross Plains, 218p.
- **Gougeon, 1986:** Gougeon A. 1986. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. Hum Reprod 1(2): 81-87.
- **Grasse et Dekeyser,1955 :** GRASSE PP et DEKEYSER PI,1955-ordre des rangeurs,pp 1321-1573,cité par GRASSE p.p.Traité de Zoologie,Mammifères,Ed Msson et Lie, Paris, T.XVII, fax. 2, pp.1172-2300.
- **Hamadine, 2000 :** HAMADINE W.,2000-Biosystématique et écologie des population de Gerboises dans les mileux arides,région de Bni Abbés(Algérie).Thése Doc. Etat,Fac.Sci. ing., Univ.Mouloud Mammeri,Tizi Ouzou,147p.
- **Happold, 1967:** HAPPOLD,D.C.D.(1967).Biology of the jerboa,Jaculus jaculus brutleri (Rodentia,Dipodidae) in the Sudant J.Zool.Lond.151:257-275.
- **Happold,1967:** HAPPOLD D. C. D., 1967 c – Biology of the jerboa, Jaculus jaculus butleri (Rodentia, Dipodidae), in the Sudan.Journal of Zoology, 151: 257-275.
- **Happold,1970:** HAPPOLD D. C. D., 1970 b –Reproduction and development of the Sudanese jerboa, Jaculus jaculus butleri (Rodentia, Dipodidae).Journal of Zoology, 162 : 505-515
- **Heath et al., 2008:** Heath JW. et al., (2008). Atlas d'histologie fonctionnelle de Weather, De Boeck université (Ed), Bruxelles Belgique , 432p.
- **Hillier, 2001 :** Hillier, S. G. (2001). Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. Mol Cell Endocrinol 179, 39-46.
- **Hoffmann, 1963 :** HOFFMANN G. Les animaux de laboratoire, Paris, Vigot frères éditeur, 1963, 288p.
- **Hulshof et al. ,1994:** Hulshof SC, Figueiredo JR, Beckers JF, Bevers MM, van den Hurk R. 1994. Isolation and characterization of preantral follicles from foetal bovine ovaries. Vet Q 16(2): 78-80.

- **Ishimwe, 2008** : ISHIMWE. Egide(2008).-Effets de l'infuse des racines entiers de *Nauclea Latifolia* sur les performances de reproduction :Etude expérimentale chez le Rat. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar (E.I.S.M.V.), n°29.
- **KENGNI, 2006 :** JUNIE HURETTE CHANSI KENGNI, B.Sc.(2006).Régulation et expression de la prostaglandine dsynthétase (pgds) et de la prostacycline synthétase (pgis) dans l'endomètre de rat gestant, non gestant et pseudogestant. Mémoire de recherche présenté.l'université du québec à trois-rivières.
- **König et Liebich, 2004:** KÖNIG H.E., LIEBICH H.G. (2004) Female genital organs In : KÖNIG ET LIEBICH (eds), Veterinary anatomy of domestic mammals, Schattauer (éd), Stuttgart, p
- **Leeson et Leeson, 1980 :** Leeson TS. & Leeson CR. (1980). Histologie 2ème édition, Masson(Ed), Paris France, 531p.
- **luksenberg ,2004 :** LUKSENBERG M. Anatomie de la souris : Création d'un CD-Rom, thèse Med. Vet. Alfort, 2004, 30 pages.
- **Lundy et al., 1999:** Lundy T, Smith P, O'Connell A, Hudson NL, McNatty KP. 1999. Populations of granulosa cells in small follicles of the sheep ovary. J Reprod Fertil 115(2): 251-262.
- **Maillet et al., 2001 :** Maillet M. et al., (2001). Histologie 2ème édition, PICCIN NUOVA (Ed), Padoue Italie 485p.
- **Maillet, 1974 :** MAILLET, M., 1974.Histophysio10gie de l'appareil génital féminin..Ed. GAUTHIER - VILLARS, 1; 253 pages.
- **Marck, 2010 :** MARCK V. (2010).Anatomie et physiologie humaines 6^{éme} édition, PEHRSON Education.P1024-1028.
- **Monniaux et al., 1997 :** MONNIAUX D, HUET C, BESNARD N, CLEMENT F, BOSC M, PISSELET C, MONGETP, MARIANA JC (1997). Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 51, 3-23.
- **Ouali-hassenaoui,2006 :** Ouali-hassenaoui S., 2006- Les rongeurs déserticoles : Modèles d'étude de la plasticite neuro-gliale du système hypothalamo-neurohypophysaire au cours de la déshydratation prolongée. Thèse de magistère. F.S.B, U.S.T.H.B, Alger., 157p.
- **Pan et al., 2005:** Pan H, O'Brien M J, Wigglesworth K, Eppig JJ, Schultz RM. 2005. Transcript profiling during mouse oocyte development and

the effect of gonadotropin priming and development in vitro. Dev Biol 286(2): 493-506.

- **Peters et Ball,1995**:PETERS A.R et BALL P.J.H,1995. Reproductio in cattle.-2ème éd.-Londres:Blakwellscience.-234p.
- **Petter et al., 1984 :** F. Petter, F. Lachiver & R. Chekir (1984) Les adaptations des rongeurs Gerbillidés à la vie dans les régions arides, Bulletin de la Société Botanique de France).
- **Petter, 1961 :** PETTER F.,Répartiotion géographique et écologique des rangeurs désertiques (du Sahra occidental à l'Iran oriental). Mammalia, 1961,25N° Spécial.
- **Popesko et al., 1992:** POPESKO P, RAJTOVA V, HORAK J. A color atlas of small laboratory animals volume 2 : Rat, Mouse, Hamster, London, Wolfe Publishing LTD, 1992, 253 pages.
- **Priedkalns et Leiser,1998** : PRIEDKALNS J., LEISER R. (1998) Female reproductive system. *In :* DELLMANN H., EURELL J. *Textbook of veterinary histology.* Baltimore, Williams and Wilkins, 247-269.
- **Ramé et Thérond, 2009 :** Ramé A. & Thérond S. (2009). Anatomie et physiologie, Elsevier Masson (Ed), France, 318p.
- **Rousseau et Menezo, 1991 :** ROUSSEAU JP., MENEZO Y. (1991) Rôle du tractus génital femelle dans les déplacements et la survie des gamètes et de l'oeuf fécondé. In : THIBAULT C, LEVASSEUR MC, coordonnateurs. Paris : Editeur des préparations grandes écoles de médecine, 359-376.
- **Rugh 1968:**RUGH R. (1968) Reproductive systems. *In: The mouse its reproductive and development*. Minneapolis: Burgess Publishing Co., 37-41.
- **Shenbrot et al., 2008:** Shenbrot GI, Sokolov VE, Heptner VG. 2008. Gerboises: mammifères de la Russie et les régions adjacentes. Science Publishers, Fr fi domaine, NH.
- **Talbi et al., 1796 :**Talbi R , Klosen P , Laran-Chich MP , El Ouezzani S , Simonneaux V (1796).Régulation saisonnière coordonnée des peptides hypothalamiques métaboliques et reproductifs dans le jerboa du désert.

- The Johns Hopkins University press.**1997**. "**Mammifères Walkes du monde**" (en ligne).Accédé au 10 février 2004.
- **Thibault et Levasseur, 2001** :Thibault, C. and Levasseur, M. C. (2001). La Reproduction chez les mammifères et l'homme INRA Editions.
- **Toutain, 1979 :** TOUTAIN G.,1979 -Elements d'agronomie saharienne (de la recherché au développement).Ann.Agro.Sah.,276p.
- **Vaissaire ,1977 :** VAISSAIRE, J. P., 1977.Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de Laboratoire.Ed. Maloine, Paris, 457 pages.
- **Vaissaire jp,1977 :**VAISSAIRE JP,1977. Sexualité et Reproduction des mammifères domestiques et laboratoire.-Paris :Maloine Editeur.-457p.et Appareil génital femelle. In : Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Paris : Maloine S.A. Editeur, 206-245.
- **Vaissaire, 1977** : VAISSAIRE JP, 1977.Sexualité et Reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire .- Paris : Maloine Editeur .- 457p.
- **Vaissaire, 1977** : VAISSAIRE JP. (1977) Female reproductive system. In: Applied veterinary histology. 3rd ed. St Louis: Mosby-Year book, Inc, 452-457.
- **Wainsten, 2012** : WAINSTEN JP ., (2012).Larousse médical,Larousse (Ed),France,1113p.
- ***Webb et all.,2004:*** Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Armstrong DG (2004) Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. J Anim Sci 82 E-Suppl, E63-74.
- **Wurth, 2010** : Emmeline, Marie-Alexandrine WURTH (2010).Etude comparative de l'ovulation chez les mammiferes. Thèse de Doctorat d'Etat,La faculte de medecine de Creteil. École Nationale Veterinaire d'Alfort.

CHAPITRE I

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES



CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES



CHAPITRE III

RÉSULTATS



CHAPITRE IV

DISCUSSION



CONCLUSION
Et
PERSPECTIVES



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



ANNEXES

