

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Le suivi des chaleurs chez la chienne par différentes méthodes

Présenté par

CHADLI MANEL

DERRADJI ASMA

Devant le jury :

| | | | |
|-----------------------|-----------|---------------------|------------|
| Président(e) : | YAHIMI.K | M.C.B | ISV. Blida |
| Examineur : | ADEL.D | M.A.A | ISV. Blida |
| Promoteur : | BELLALA.R | M .C.B | ISV. Blida |
| Co-promoteur : | RAHMANI.A | DOCTEUR VETERINAIRE | CRFC/GN |

Année : 2016/2017

***« Certes, il y'a des travaux pénibles ;
mais la joie de la réussite n'a-t-elle pas à
compenser nos douleurs ? »***

Jean de la bruyère



Remerciements

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude

À notre promoteur BELALA REDHA

Pour nous avoir confiées cette étude et pour la correction de cette thèse

À Docteur YAHIMI.K le président du jury

A Docteur ADEL.D

**Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de faire part des membres du jury de notre thèse et
*d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et critiques***

À l'ensemble du personnel du CRFC/GN de BAINEM

**Pour leur aide et leur accueil, leur confiance, leur disponibilité, pour leur temps consacré à la partie
expérimentale et surtout pour leur patience**

Dédicaces

À nos plus belles créatures que Dieu a créé sur terre
À ces sources de tendresse, de patience et de générosité
À nos chères mères !

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que nous avons toujours eu pour vous et rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour notre éducation et notre bien être

Nos chers pères

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour notre éducation et notre formation

À nos familles grâce à leurs encouragements et leur soutien pendant toutes ces années

Pour tous les moments que l'on a partagés

Merci à tous pour cet exemple de famille unie

À tous nos ami(e)s pour toutes ces années

Qui nous laissent des souvenirs indélébiles

Malgré la distance, nous espérons avoir encore beaucoup de moments à partager avec vous

À Dr SELLALI pour votre inlassable soutien

À l'ensemble du personnel de la clinique vétérinaire du CRFC

À toutes les petites chiennes du CRFC

A tous ceux que nous aurions oublié, qu'ils nous en excusent.

Résumé

Après avoir présenté les connaissances actuelles en matière d'anatomie, de physiologie et d'endocrinologie sexuelle de la chienne, nous avons décrit les différentes méthodes disponibles pour déterminer le jour de l'ovulation

Nous avons entamé notre partie expérimentale sur des chiennes en chaleurs dont on a fait le suivi par des frottis vaginaux avec des colorations différentes : (le **Diff quick**, **l'Harris Shorr complet** et **l'Harris Shorr simplifié**), un dosage de la progestéronémie ainsi que des examens échographiques

Nos résultats démontrent pour la méthode cytologique que le colorant **Diff quick** permet un bon suivi des chaleurs (surtout la période du Proœstrus) en se basant uniquement sur la morphologie cellulaire, ce colorant donne des valeurs semblables lors du calcul de l'indice cytologique à celles **d'Harris Shorr complet** et **simplifié** et que ce dernier (**l'Harris Shorr simplifié**) nécessite une lecture immédiate après réalisation

Concernant la méthode échographique, la détermination précise du moment de l'ovulation nécessitant un suivi échographique journalier peut se faire aussi chaque 2 jour.

La technique qui consiste à effectuer des examens échographiques ovariens associée à la réalisation de frottis vaginaux permet d'obtenir des résultats très fiables en commençant l'examen échographique après avoir obtenu un Indice cytologique supérieur à 60 % tout en sachant qu' à des valeurs inférieure à cet indice, la progestéronémie est basse et les structures ovariennes sont trop petites

ملخص

بعد تقديم المعلومات الخاصة بعلم التشريح و علم وظائف الأعضاء و الإفرازات الهرمونية للغدد الصماء الخاصة بأنثى الكلب الأليف تطرقنا لمختلف الطرق المتاحة لتحديد يوم الإباضة

عند دخول أنثى الكلب الأليف مرحلة الشبق قمنا بالمرحلة التجريبية التي تعتمد على المسحة المهبلية بأصباغ مختلفة (الديق كويك، هاريس شور كامل و هاريس شور مبسط) ، تحليل هرمون البروجسترون بالإضافة إلى تحليل الموجات فوق الصوتية

إن أداء فحوص الموجات فوق الصوتية للمبيض المرتبطة بالتحقق بالمسحات المهبلية توفر نتائج موثوقة جدا و هذا ابتداء من الفحص بالموجات فوق الصوتية بعد الحصول على مؤشر خلوي أعلى 60 % مع العلم أن نسبة أقل من المذكورة تعطي قيمة

بروجسترون منخفضة والهياكل المبيضية تكون صغيرة جدا

نتائجنا تظهر ان صبغة الديق كويك بالنسبة للطريقة الخلوية انه تتيح الرصد السليم للشبق (لا سيما في الفترة الاولية)، فهو مبني فقط على مورفولوجيا الخلايا لحساب المؤشر الخلوي على

غرار هاريس شور الكامل والمبسط وكما ان صبغة هاريس

شور المبسط تتطلب قراءة فورية بعد استعماله

وفيما يتعلق بطريقة الموجات فوق الصوتية، والتي التحديد الدقيق للإباضة بها يتطلب رصد الموجات فوق الصوتية اليومي

يمكن أيضا أن يتم كل يومين

Abstract

After presenting the current knowledge of anatomy, physiology and sexual endocrinology of the female dog, we described the different methods available to determine the day of the ovulation

Our experimental part was based on the heat of the bitch followed by vaginal smears with different staining (Diff-quick, Full Harris-Shorr, Harris-Shorr simplified), progesterone dosage and the ovarian ultrasound.

The technique of performing ovarian ultrasound combined with the realization of vaginal smears allows very reliable results to be obtained by beginning the ultrasound examination after obtaining a cytological index greater than 60%, while knowing that at lower values at this index, progesterone is low and ovarian structures are too small.

Our results demonstrate for the cytological method that the Diff quick dye allows a good follow-up of the heats (especially the proœstrus period), similar to the full Harris Shorr and simplified based only on the cell morphology for the calculation of the index Cytology and that simplified Harris Shorr requires immediate reading after completion

With regard to the ultrasound method, accurate determination of the time of ovulation requiring daily ultrasound monitoring can also be done each 2 days

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. RAPPEL ANATOMIQUE DE L'APPAREIL GENITAL FEMELLE..... 2

1. Les ovaires 2

2. Les oviductes : 2

3. L'utérus : 3

4. Le vagin : 3

5. Le vestibule : 3

6. La *fosse clitoridienne* : 4

7. Le clitoris : 4

8. La vulve : 5

9. Les mamelles 5

II. RAPPELS PHYSIOLOGIQUE 6

• la Phase folliculaire 6

1. Le cycle œstral de la chienne 7

a. *Le pro-œstrus*..... 7

b. *L'œstrus* 8

c. *Métœstrus* 8

d. *Anœstrus* 8

2. Les hormones impliquées dans la régulation du cycle sexuel : 10

| | |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| III. Etude des méthodes para-cliniques du suivi du cycle :..... | 13 |
| • Le frottis vaginal..... | 13 |
| • L'échographie ovarienne | 15 |
| • La vaginoscopie..... | 19 |
| • Le dosage de la progestérone :..... | 19 |
| • La résistivité vaginale :..... | 21 |

PARTIE EXPERIMENTALE

| | |
|------------------------------------------------------------|----|
| I. Introduction et Objectifs :..... | 22 |
| II. MATERIEL ET METHODES : | 23 |
| 1) Description générale du lieu de l'expérimentation | 23 |
| 2) Le cheptel canin..... | 23 |
| 3) Suivi du cycle | 24 |
| A- Examen clinique | 24 |
| B- Examen cytologique vaginal | 25 |
| C- Dosage de la progestérone | 29 |
| D- Examen échographique | 29 |
| E- La résistivité du mucus vaginal | 32 |
| • Le Protocole expérimental | 33 |

RESULTATS

| | |
|--------------------------------------------------|----|
| I. Résultats des données cytologiques :..... | 34 |
| II. Résultats des données Echographiques : | 41 |

Discussion

| | |
|----------------------------------------------------|----|
| I. Discussion des résultats cytologiques : | 50 |
| II. Discussion des résultats échographiques :..... | 51 |
| Conclusion | 53 |
| Références bibliographiques | 54 |

Liste des tableaux

| Titre du tableau | Page |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Tableau 1 : Cycle sexuel chez la chienne | 9 |
| Tableau 2 : les méthodes de classification des différents stades du cycle œstral | 12 |
| Tableau 3 : Technique de coloration d'Harris-Shorr complet | 27 |
| Tableau 4 : Technique de coloration d'Harris-Shorr simplifié | 28 |
| Tableau 5 : les résultats de l'indice éosinophilique et de l'indice de kératinisation | 40 |
| Tableau 6 : Tableau présentant le nombre de follicules sur chaque ovaire et la taille des follicules avant ovulation (en cm). les moyennes totales sont calculées sur les 9 chiennes | 42 |

Liste des figures

| | Titre des figures | Page |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Figure 1 : | Représentation schématique de la vulve (vue extérieur) | 4 |
| Figure 2 : | Représentation schématique du tractus génital femelle (vue dorsale avec paroi dorsale incisée caudalement) | 4 |
| Figure 3 : | Coupe longitudinale à travers un ovaire pour montrer l'activité ovarienne. | 7 |
| Figure 4 : | Follicules préovulatoire de la chienne | 7 |
| Figure 5 : | Technique d'écouvillonnage chez la chienne | 14 |
| Figure 6 : | Epithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié | 14 |
| Figure 7 : | Les cellules du frottis vaginal | 15 |
| Figure 8 : | Echographie sur une chienne en décubitus latéral utilisant une sonde linéaire | 16 |
| Figure 9 : | Echographie sur une chienne debout utilisant une sonde sectorielle | 16 |
| Figure 10 : | Image échographique au cours du pro-œstrus : on observe ici plusieurs cavités avec un aspect « en nid d'abeille» | 17 |
| Figure 11 : | Image échographique au cours de l'œstrus : collapsus folliculaire | 18 |
| Figure 12 : | Image échographique après ovulation : l'aspect est similaire à celui observé en période préovulatoire | 18 |
| Figure 13 : | Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale au moment du pro-œstrus (1) et de l'œstrus (2) | 19 |
| Figure 14 : | Évolution de la progestéronémie au cours du cycle sexuel de la chienne | 21 |
| Figure 15 : | Photographies personnelles des différents types d'aliments distribués aux chiennes | 23 |

| | | |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figure 16 : | photographies personnelles de la vulve de 2 chiennes en chaleurs dont la figure 16(A) représente la tuméfaction vulvaire et la figure 16 (B) l'écoulement sanguin | 24 |
| Figure 17 : | photographies personnelles des différentes étapes de l'introduction de l'écouvillon | 25 |
| Figure 18 | photographie personnelle de la technique d'étalement | 25 |
| Figure 19 | photographie personnelle du Diff-Quick | 26 |
| Figure 20 | photographie personnelle du colorant d'Harris Shorr complet | 26 |
| Figure 21 | Microphotographies personnelles des lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle œstral par les deux colorations ; HARRIS SHORR et le DIFF-QUICK | 29 |
| Figure 22 | photographie personnelle de l'échographe utilisé lors de la partie expérimentale au niveau du CRFC | 30 |
| Figure 23 | photographie personnelles de la sonde linéaire (LA 523) | 31 |
| Figure 24 | photographie personnelle de la sonde micro convexe (CA 123) | 31 |
| Figure 25 | photographies personnelles des différentes étapes de la préparation de l'animal à l'échographie ainsi qu'une image échographique du résultat obtenu | 32 |
| Figure 26 | photographie personnelle montrant l'appareil qui mesure la résistivité vaginale | 32 |
| Figure 27 | Microphotographies personnelles de lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle œstral par les trois colorations ; Harris Shorr Complet , Harris Shorr Simplifié et le Diff-quick par faible grossissement (X100) | 35 |

| | | |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figure 28 | Microphotographies personnelles de lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle œstral par les trois colorations ; Harris Shorr Complet , Harris Shorr Simplifié et le Diff-quick par fort grossissement (X400) | 36 |
| Figure 29 | Des microphotographies personnelles montrant la disparition du colorant après quelques temps de sa réalisation | 37 |
| Figure 30 | Microphotographies personnelles expliquant la mise en évidence des hématies et polynucléaires sur des lames colorées avec le Diff quick | 37 |
| Figure 31 | microphotographies personnelles des cellules superficielles(B) et grandes intermédiaires (A) complètement kératinisées observées sur une lame colorée par l' Harris Shorr | 38 |
| Figure 32 | l'évolution de l'indice éosinophilique calculé sur lame colorée par l'Harris Shorr simplifié | 38 |
| Figure 33 : | l'évolution de l'indice éosinophilique calculé sur une lame colorée l'Harris Shorr | 39 |
| Figure 34 | microphotographie personnelle des cellules superficielles anucléées observées sur une lame colorée par le Diff quick | 39 |
| Figure 35 | l'évolution de l'indice de kératinisation calculé après coloration de la lame avec le DIFF-QUICK | 40 |
| Figure 36 | l'évolution de l'indice éosinophilique et de kératinisation calculée avec les 3 colorations : le DIFF-QUICK, l'HARRIS SHORR complet et simplifié | 41 |
| Figure 37 | Image échographique personnelle de l'ovaire gauche d'Any avec présence de 3 follicules anechogenes et leurs paroi | 43 |
| Figure 38 | Image echographique personnelle de l' ovaire droit de RETTA avec des follicules en aspect de nid d'abeille | 43 |
| Figure 39 | Image échographique personnelle de l'ovaire droit de BRINDY un jour avant l'ovulation, les follicules ont une forme irrégulière | 44 |

| | | |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Figure 40 | Images échographiques personnelles du collapsus complet de l'ovaire gauche d'ANY, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes (® CRFC/GN de Bâiném) | 45 |
| Figure 41 | Image échographique personnelle du collapsus complet de l'ovaire droit de CARMA, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes | 45 |
| Figure 42 | Image échographique personnelle du collapsus partiel de l'ovaire droit de RETTA, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes sur l'ovaire | 46 |
| Figure 43 | Image échographique personnelle du Collapsus partiel de l'ovaire gauche de GAYA avec présence du liquide | 46 |
| Figure 44 | Image échographique personnelle de l'ovaire gauche de FABIA présentant des corps jaunes | 47 |
| Figure 45 | Image échographique personnelle de l'ovaire gauche d'ANITTA avec de grands corps jaunes à son niveau | 47 |
| Figure 46 | Image échographique personnelle de l'ovaire gauche de DORINE après ovulation, l'ovaire est rapproché du rein gauche avec un aspect bosselé de l'ovaire, la taille des corps jaunes est indiquée à gauche | 48 |
| Figure 47 | l'évolution des diamètres de l'ovaire et des structures ovariennes durant le cycle sexuel de Cristina | 48 |
| Figure 48 | Image échographique personnelle de l'ovaire droit d'ANY lors de l'anœstrus, a noté l'aspect circulaire et la petite taille de l'ovaire | 49 |

Liste des Abréviations

Titre des figures

| | |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| CRFC/GN : | Centre de Reproduction et de Formation Cynotechnique de la Gendarmerie Nationale de Baïnem |
| CJ: | corps jaune |
| GNRH: | Gonadolibérine (Gonadotropin Releasing Hormone) |
| HSC: | Harris Shorr complet |
| HSS : | Harris Shorr simplifié |
| FSH: | Hormone folliculo-stimulante (Folliculo Stimulating Hormone) |
| LH: | Hormone lutéinisante (Luteinizing Hormone) |
| IK: | Indice de kératinisation |
| IE : | Indice éosinophilique |
| E2: | Œstrogène |
| Ovaire D : | Ovaire droit |
| Ovaire G : | Ovaire gauche |
| P4: | Progesterone |
| PRL: | Prolactine |

Introduction

Les études sur la reproduction chez la chienne ont débuté dès le début du XXème siècle. Ainsi en 1900 **Walter Heape** a défini les différentes phases du cycle sexuel et depuis, la reproduction canine a tellement évolué jusqu'à présent. Elle représente le motif le plus fréquent de consultation en clinique vétérinaire puisque la plupart des chiennes ratent leur gestations suite à une ou plusieurs saillies réalisées à une période où la chienne peut-être réceptive au mâle mais non féconde.

Notre travail vise à optimiser le suivi des chaleurs pour permettre de savoir précisément quand la chienne est prête à être saillie ou inséminée. Ce suivi est effectué par différentes méthodes : cytologiques (frottis vaginaux), hormonales (dosage de la progestérone) ainsi qu'échographique, cette dernière dont la précision s'améliore d'année en année, pourrait permettre de définir mieux encore le moment de l'ovulation et donc d'apprécier plus facilement d'éventuelles particularités au cours des chaleurs

L'intérêt de notre travail est de permettre au praticien de combiner de façon raisonnée entre les examens les plus fiables, les moins onéreux possible, afin de réaliser au mieux le suivi des chaleurs et de détecter l'ovulation de la manière la plus précise.

Dans la première partie, nous rappellerons quelles sont les caractéristiques de l'anatomie, la physiologie et l'endocrinologie sexuelles de la chienne. Nous décrirons quelles sont les modifications comportementales, morphologiques et hormonales qui ont lieu pendant les différentes phases du cycle sexuel de la chienne

Dans la deuxième partie, nous étudierons les diverses méthodes utilisées pour déterminer le moment de l'ovulation

Enfin et en troisième partie, nous étudierons expérimentalement l'utilisation des méthodes déjà citées comme moyen de détermination de l'ovulation, nous indiquerons aussi les résultats obtenus et nous les discuterons

I. RAPPEL ANATOMIQUE DE L'APPAREIL GENITAL FEMELLE

La production des ovules, la fécondation, la gestation et la naissance d'une descendance sont des fonctions selon **(BALZER and LOTH, 2012)** assurées par l'appareil génital de la chienne qui est constitué par : les ovaires, glandes génitales puis l'utérus, le vagin et enfin la vulve **(Akers and Denbow, 2013; Nyland et al., 2002)**.

1. Les ovaires

Sont des organes pairs ellipsoïde **(DYCE et al., 2010)** de petite taille dont la surface varie selon la phase du cycle sexuel **(Dorn et al., 2000)**, se situent au niveau des 3^{ème} ou 4^{ème} vertèbres lombaires **(GIER, 2011)**, juste sous les muscles du dos, chaque ovaire est inclus dans une bourse ovarienne plus ou moins graisseuse selon la race ou l'âge de l'animal **(BALZER and LOTH, 2012)**

Ils assurent deux fonctions : la fabrication des ovules pendant la période des chaleurs et la sécrétion des nombreuses hormones sexuelle **(BALZER and LOTH, 2012; FONTBONNE et al., 2011)**

2. Les oviductes :

Les trompes utérines, trompes de Fallope ou salpynx **(Reece, 2015)** : sont situés dans la bourse ovarienne **(FONTBONNE et al., 2011)** et sont deux conduits tubulaires très étroits, s'étendent de l'utérus à l'ovaire en décrivant un trajet flexueux entre les deux lames du ligament large. Ils sont à peine sinueux, mesurant de quatre jusqu'à sept et demi centimètre (4 à 7,5 cm) **(Drion et al., Août 2003)**, courts, et difficiles à mettre en évidence à l'examen direct **(FONTBONNE et al., 2011)**, ils permettent le transit des ovules jusqu'à l'utérus, elle sont constituées de :

- Le pavillon ou infundibulum :

C'est une dilatation de l'oviducte en forme d'entonnoir qui s'ouvre dans la bourse de l'ovaire **(Aspinall and Capello, 2015)**

- L'ampoule :

Un segment assez large **(Barone, 2001)**

- L'isthme

C'est le lieu de fécondation de l'ovule et correspond à la partie étroite entre l'ampoule et l'utérus **(Barone, 2001)**

3. L'utérus :

Est composé de deux cornes, d'un corps et d'un col formant un organe en forme de Y (**Aspinall and Capello, 2015**) dont la taille et le calibre varient considérablement en fonction de l'âge et de la race aussi du stade du cycle et du nombre de portées. La taille va augmenter lors de la puberté et les chaleurs, pour atteindre son maximum lors du di œstrus chez les chiennes non gestantes. Elle décroît ensuite progressivement pour atteindre sa taille initiale lors de l'anœstrus, c'est pourquoi il peut être difficile de la visualiser lors d'un examen complémentaire (radiographie, échographie) réalisé en période de repos sexuel (**FONTBONNE et al., 2011**)

- Les cornes utérines :

Sont deux tubes de muqueuse dans lesquelles se développeront les fœtus lors de la gestation (**Aspinall and Capello, 2015**). Les fœtus se répartissent dans les deux cornes (**BALZER and LOTH, 2012**)

- Le corps utérin :

Il est court, limité caudalement par le cervix et crânialement par la bifurcation formée par les deux cornes (**Dorn et al., 2000**)

- Le col utérin :

Court de forme cylindrique et de consistance caoutchouteuse qui ne se dilate qu'à la période de reproduction (**Budras et al., September, 2007; Fletcher and Clarkson, 2010**)

A la jonction entre l'utérus et le vagin se trouve le col, mesurant en moyenne 1,5 à 2 cm de long (**Johnston et al., (2001)**)

1. Le vagin :

Est un conduit musculo-membraneux situé entre le vestibule et l'utérus, il présente des plis longitudinaux et transversaux (crête), portion permettant l'accouplement sous forme d'une bouteille, situé dans le bas du ventre de la chienne, entre la vessie et le rectum (**BALZER and LOTH, 2012**), comprimé dorso-ventralement par les organes adjacents, il est caractérisé par sa longueur importante presque la même que celle des cornes. Son épithélium est le siège de profonds remaniements qui permettent par l'analyse de frottis vaginaux de détecter précisément le stade du cycle (**König and Liebich, may 2014**)

2. Le vestibule :

Est une chambre urogénitale commune qui s'étend de la fente vulvaire au vagin et dans laquelle on trouve les glandes vestibulaires mineurs (**Dorn et al., 2000**)

3. La fosse clitoridienne :

Plus ou moins profonde ou se trouve le clitoris (Barone, 2001)

4. Le clitoris :

Organe homologue au pénis du male qui est caché dans la partie inférieure de la vulve. Il est constitué d'un tissu érectile et de terminaisons sensorielles nerveuses (Reece, 2005)

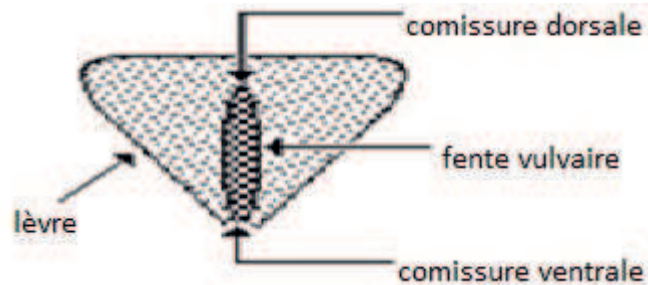


Figure 1 : Représentation schématique de la vulve (vue extérieur) (Fletcher and Clarkson, 2010)

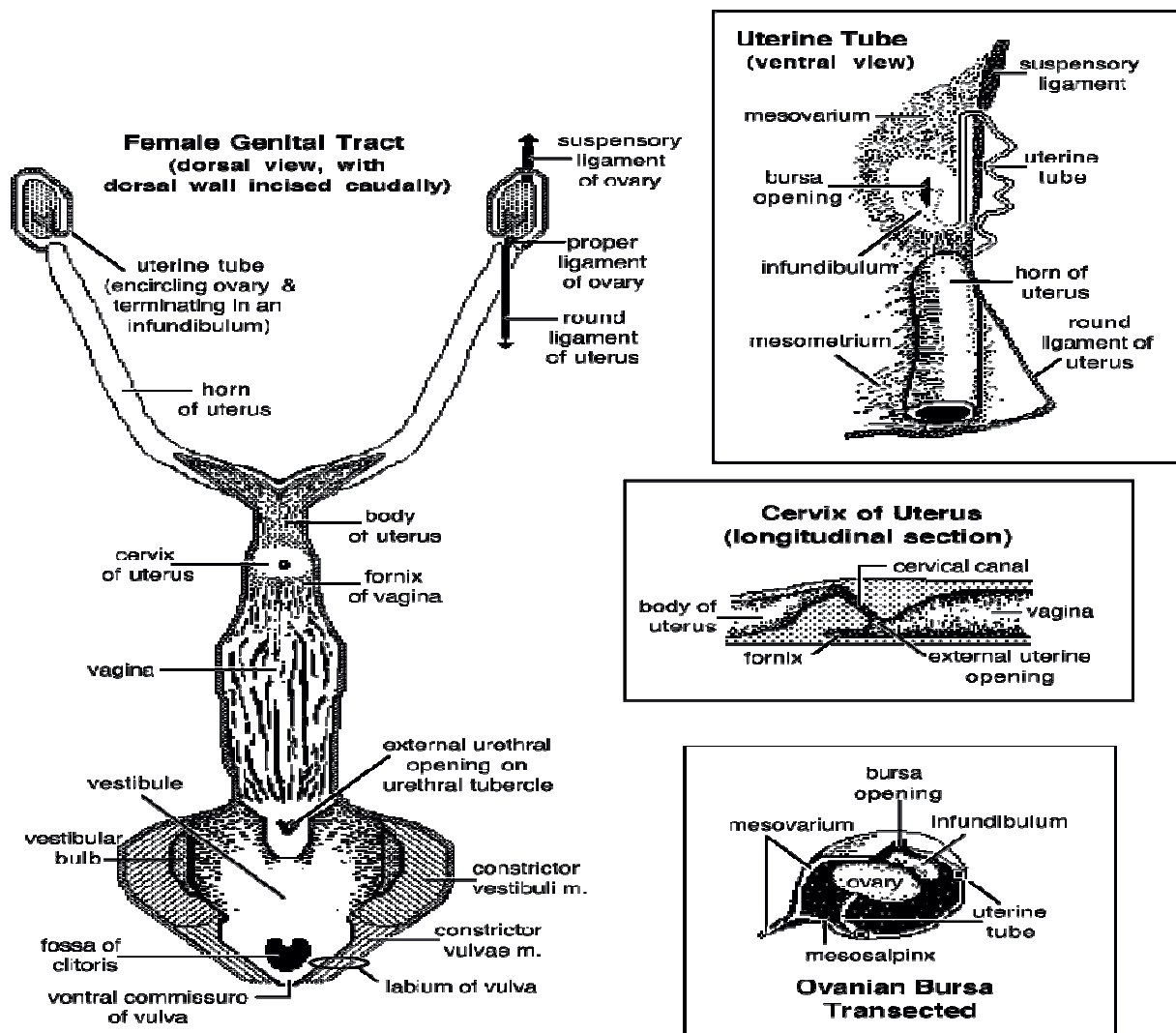


Figure 2 : Représentation schématique du tractus génital femelle (vue dorsale avec paroi dorsale incisée caudalement) (Fletcher and Clarkson, 2010)

5. La vulve :

Les lèvres vulvaires couvrent la fosse clitoridienne ventrale et le vestibule dorsal (**Kustritz, 2010**). Elle est composée de 2 lèvres vulvaires à gauche et à droite, séparées d'une fente au milieu (**Fletcher and Clarkson, 2010**). La vulve, très petite lors de la période du repos sexuel, devient turgescente et volumineuse pendant les chaleurs (**Davidson, Autumn**), sauf chez les chiennes reproductrices qui ont accouché plusieurs fois, elles gardent une vulve volumineuse tout au long de l'année mais molle en dehors des chaleurs (**FONTBONNE et al., 2011**),

6. Les mamelles

Sont des glandes chargées d'élaborer le lait destiné à la nutrition du nouveau-né, elles n'entrent en fonction qu'à la fin de gestation (**J.DERIVAUX and F.ECTORS, 1980.**), s'étendent de la région thoracique à la région inguinale (**Lahunta and Evans, 2013**) dans la partie ventrale du tronc, réparties en 2 chaînes symétriques (**Bragulla and König, may 2014**). La chienne possède 5 paires de mamelles (**FONTBONNE et al., 2011**): 2 pectorales, 2 abdominales et une inguinale, ces dernières sont les plus développées, les tétines sont courtes et munies de 8 à 20 orifices microscopiques (**J.DERIVAUX and F.ECTORS, 1980.; Lahunta and Evans, 2013**)

II. RAPPELS PHYSIOLOGIQUE

La puberté sexuelle de la chienne se déroule en moyenne vers 6 à 14 mois selon **(Concannon, 2010)**, 6 à 9 mois selon **(Christoph, 1976)** voire 24 mois. Elle correspond à la mise en route de l'activité sexuelle, qui survient quand la chienne atteint 80% de son poids adulte, ce qui correspond aux premières chaleurs apparaissant **(BALZER and LOTH, 2012)**. Les premières chaleurs se manifestent entre 6 mois et un an pour les chiennes de petites races et entre 1 à 2 ans pour celles de grandes races. Après les deuxièmes et troisièmes chaleurs, l'aptitude à la reproduction est optimale. Dès la puberté, le fonctionnement de l'appareil génital femelle commence. Le cycle sexuel comprend une seule période d'ovulation (mono-estrien) par cycle qui est spontanée **(Concannon, 2010; Grandjean et al., 2008)**.

- **La Phase folliculaire**

C'est une série de différentes étapes du développement du follicule qui s'étend de sa fin de croissance jusqu'à sa régression ou sa rupture lors de l'ovulation **(GAYRARD, Septembre 2007; Thibault and Levasseur, 2001)**, elle dure de une à trois semaines et les chiennes ovulent spontanément à sa fin. Elle se déroule donc durant la fin de l'anœstrus et le Prœstrus **(LUC, 2005)**.

Lors de l'anœstrus, il se produit une croissance des follicules recrutés et une prolifération des cellules de la granulosa ce qui les transforment en follicule à antrum **(Aughey and Frye, 2001)** dont la taille maximale est inférieure à 1 mm **(Lesegno, 2008)**, cette croissance est caractérisée par une augmentation de l'activité aromatasase par les cellules de la granulosa et donc de la production d'estrogènes **(Papich and Riviere, 2009)**, cette imprégnation oestrogénique est responsable des modifications comportementales et histologique **(ENTE et al., 2001)**, Alors que la différenciation terminale se produit lors du Prœstrus pour atteindre une taille allant jusqu'à 5 mm suite à une maturation rapide **(Nyland et al., 2002; PATON, 1908)**

Le FOLLICULE préovulatoire, également appelé follicule mature **(Banks, 1993)**, Juste avant l'ovulation va atteindre une taille maximale et un nombre de cellules de la granulosa maximum **(Aughey and Frye, 2001; LUC, 2005)**.

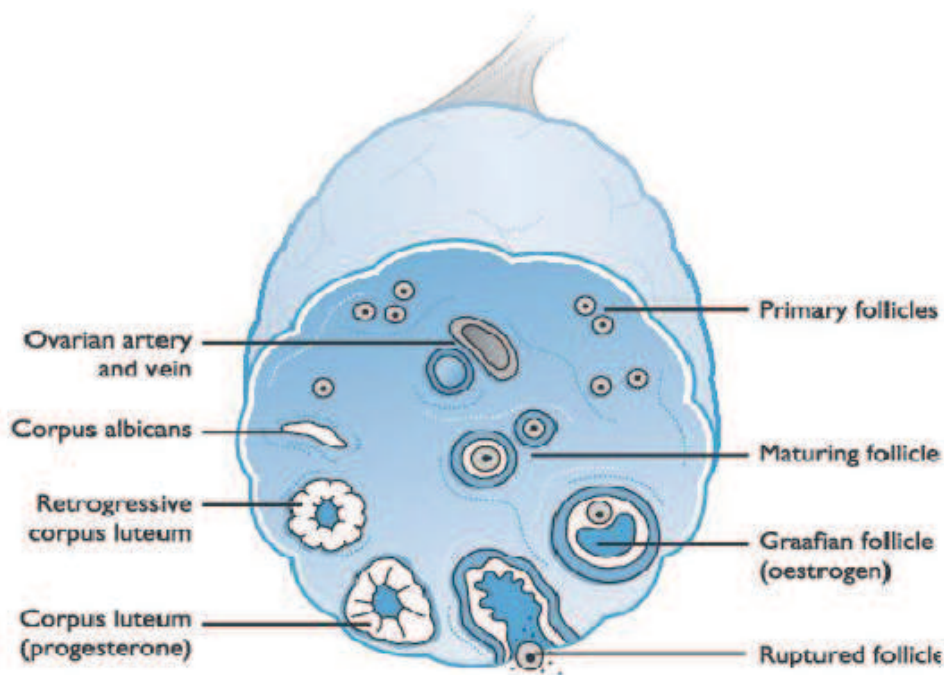


Figure 3 : Coupe longitudinale à travers un ovaire pour montrer l'activité ovarienne(Aspinall and Capello, 2015)



Figure 4 : Follicules préovulatoires de la chienne (Lesegno, 2008)

1. Le cycle œstral de la chienne

a. Le pro-œstrus

C'est la première phase du cycle œstral. Pendant cette période, la femelle attire le male et refuse l'accouplement par un comportement agressif ou joueur (Noakes *et al.*, Jun 2001) suite aux phéromones présents dans les sécrétions vaginales et les urines (Johnston *et al.*, (2001)), accompagnée d'une augmentation de prise de boisson et diminution de l'appétit, c'est aussi la phase de maturation folliculaire ce qui rend le Proœstrus antérieur à l'ovulation (FONTBONNE *et al.*, 2011)

b. L'œstrus

C'est la période d'acceptation du male(**Greer, 2014**) qui se traduit par l'apparition du réflexe d'Amantéa : l'attouchement de la région provoque l'extension du tronc, le relèvement de la croupe, la déviation latérale de la queue, l'élévation et l'ouverture de la vulve (**BARON, 2006**), et c'est durant l'œstrus que l'ovulation se produit; spontanée de 2-3j après l'acceptation du male et 24 heures après la fin des chaleurs(**Jöchle and Larnondt, 1980**).

Et l'ensemble des deux phases citées (l'œstrus et le pro-œstrus) définit la période des chaleurs

c. Métoœstrus

C'est la phase qui suit les chaleurs, elle commence quand la chienne refuse le male(**Grandjean et al., 2008**), avec une augmentation de l'appétit(**FONTBONNE et al., 2011**), cette phase est marquée par la forte réduction des sécrétions utérines, vaginale et cervicales allant jusqu'à leur disparition(**Kustritz, 2003**), cependant le corps jaune reste fonctionnel que la chienne soit gestante ou pas (**Johnston et al., (2001)**).

d. Anœstrus

C'est la phase du repos sexuel, à activité hormonale à bas bruit (**Dorn et al., 2000**). pendant cette période, la vulve est petite et non dilatée(**Blendinger, 2007**) et la chienne n'attire pas les males (**Johnston et al., (2001)**), l'Anœstrus est responsable de la grande variabilité de la durée du cycle sexuel chez la chienne et elle optimise la fonction de la reproduction(**BARON, 2006; Corneloup, 2011**). Le début de l'Anœstrus n'est pas clairement perceptible chez la chienne non gestante puisqu'il n'y a pas de délimitation clinique détectable et évidente entre le dioestrus et l'Anœstrus (**FELDMAN and NELSON, 2004**)

Il est à noter que l'ensemble Métoœstrus et Anœstrus est désigné sous le terme "interœstrus". L'interœstrus est donc l'intervalle entre deux vagues de chaleurs successives (**FONTBONNE et al., 2011**) de durée de 5 à 6 mois (**BALZER and LOTH, 2012**).

- Ces phases déjà citées sont accompagnées par des signes cliniques expliqués par le tableau suivant :

| Phases du cycle | Durée | Signes extérieurs | Signes fournis par l'inspection | Signes fournis par la palpation | Constatations histologique |
|------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pro œstrus | 7-9 jours | Gonflement de la vulve, écoulement vaginal hémorragique abondant devenant semblable à du jus de viande | Muqueuse rose rouge, oedematiée et plissée, sillons remplis de sécrétion œstrale, canal cervical légèrement ouvert | Utérus rond, ferme pouvant atteindre l'épaisseur du petit doigt | Prédominance des cellules intermédiaires, caryorexies et caryolyses isolées ; début de coloration acidophile ; hématies au début du Pro œstrus |
| Œstrus | 4-8 jours | Augmentation de volume de la vulve, diminution et éclaircissement de l'écoulement | Muqueuse rose clair, début de dégonflement, formation de plis profonds et serrés, dessiccation de la surface | Utérus rond, ferme pouvant atteindre l'épaisseur du petit doigt | Cellules superficielles partiellement sans noyau ou bords relevés (cellules naviculaires). Prédominance de la coloration acidophile (germes) |
| Métoœstrus | 4-6 semaines | Dégonflement de la vulve, restes des sécrétions sur les lèvres | Dégonflement progressif de la muqueuse, formation de plis séparés peu profonds, surface à reflet humide, canal cervical fermé avec mucus épais, opaque | Utérus ovale de l'épaisseur d'un fétu de paille | Prédominance des polynucléaires, cellules intermédiaires et parabasales isolées ; coloration basophile croissante ; germes microbiens représentés par des bacilles et des coques |
| Anœstrus | 3-5 mois | Pas de signes extérieurs, repos sexuel complet | Muqueuse rose à bleu rouge, lisse, modérément humide, seulement un plissement serré divergeant en forme d'étoile à partir de l'orifice externe du canal cervical | Utérus ovale de l'épaisseur d'un fétu de paille | Cellules intermédiaires et parabasales presque exclusivement. Frottis pauvre en cellules |

Tableau 1 : Cycle sexuel chez la chienne (Christoph, 1976)

2 .Les hormones impliquées dans la régulation du cycle sexuel :

La régulation hormonale de la reproduction s'établit sur trois niveaux (**FONTBONNE et al., 2011**):

- ☀ 1-l'hypothalamus qui secrète une hormone qui va agir sur l'hypophyse
 - ☀ 2-l'hypophyse va sécréter une autre catégorie d'hormone ; les gonadotrophines qui agissent sur les ovaires de la chienne
 - ☀ 3-les ovaires qui synthétisent les hormones sexuelles proprement dites, celles-ci régulent elles mêmes par effet rétroactifs sur l'hypophyse et l'hypothalamus
- *Les hormones hypothalamiques*
 - *La GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone)*

Sécrétée par l'hypothalamus d'une manière pulsatile (**GAYRARD, Septembre 2007**) et permanente, elle active la sécrétion et la libération de deux hormones hypophysaires (FSH et LH) (**Behrend, 2015**)

- *Les hormones antéhypophysaires*
 - *La LH (Luteinizing Hormone)*

C'est l'hormone de la lutéinisation, elle provoque l'ovulation 2 à 3 jours après le pic de LH (**Vaden et al., 2009**) et la formation du corps jaune sur un ovaire déjà sensibilisé par la FSH. De plus, sa durée de vie est plus courte que celle de la FSH, Et stimule la synthèse de progestérone par les corps jaunes ovariens. Elle est aussi responsable avec la prolactine, du maintien en activité de ces corps jaunes au cours de la gestation (action lutéotrope)(**Noakes et al., Jun 2001**).

- *La FSH (Folliculo-Stimulating Hormone)*

Sécrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse, elle déclenche le retour en chaleurs de la chienne et stimule sa maturation folliculaire. Elle agit en synergie avec la LH en induisant la synthèse d'œstrogènes par les cellules de la thèque interne des follicules ovariens (**Norris, 2007**).

- *La prolactine*

C'est une hormone produite et sécrétée par l'hypophyse, cette hormone est également une hormone lutéotrope essentielle et une condition absolue et irréfutable pour la sécrétion de progestérone à partir du 30^e jour après ovulation (**Romagnoli, 2006**)

• *Les hormones ovariennes*

- *La progestérone*

Elle est impliquée dans l'ovulation, règle l'activité protéolytique (**CARUSO, 2005**) et pourrait favoriser la rupture folliculaire (**Rossmann and Kleine, 2016**), elle entraîne une mucification vaginale (**COLE and CUPPS, 1969**). Elle a une action inhibitrice sur la sécrétion de la GnRH et sur la décharge ovulante de LH (**Maddison et al., 2008**). Elle est principalement sécrétée par le corps jaune et accessoirement par les follicules ovariens matures : follicules lutéiniques (**Catherine, 2008; GAYRARD, Septembre 2007**); Cette lutéinisation préovulatoire des cellules de la granulosa est une particularité du cycle sexuel de la chienne pendant laquelle il y a une augmentation progressive de la progestéronémie. Cela signifie que l'élévation de la progestéronémie chez la chienne n'est pas le témoin de la gestation mais de l'ovulation.

L'unique source de la progestérone est l'ovaire (**Larry R Engelking, 2012**), il n'y a pas de relais placentaire, ce qui est une autre particularité chez la chienne. Une ovariectomie pendant la gestation conduit donc à un avortement (**FAVIER, 2001**).

La synthèse de progestérone par le corps jaune (CJ) est régulée par d'autres hormones: des *hormones lutéotrope* qui stimulent la synthèse de progestérone par le corps jaune: la prolactine (PRL) (à partir de 30 jours de gestation) (**Maddison et al., 2008**)

- *Les œstrogènes*

Ils induisent l'œstrus et sont sécrétés par la thèque interne des follicules antraux (**Cunningham and Klein, 2007**), Les œstrogènes sont responsables des manifestations comportementales et histologiques des chaleurs (**Aughey and Frye, 2001; Banks, 1993**).

Ils provoquent la congestion, l'œdème de la vulve et du vagin. Ils sont également responsables de la croissance de l'épithélium vaginal (**Blendinger, 2007**), accompagné d'une **kératinisation** et d'une **desquamation** des cellules de la couche épithéliale superficielle (**Aughey and Frye, 2001**). Les œstrogènes exercent aussi une activité de maturation sur les follicules et permettent l'hyperplasie et la différenciation des cellules du tractus génital (**Sontas et al., 2009**).

Le tableau suivant traduit les différentes variations hormonales pendant les phases du cycle :

Tableau 2 : les méthodes de classification des différents stades du cycle œstral (**Johnston et al., (2001)**)

| Profile | Prœstrus | œstrus | Métœstrus | Anœstrus |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Hormonale | -Pic E2 -P4↓ jusqu'à la fin du Prœstrus ou bien le début de l'œstrus -Des pulsations de LH sont remarquées ainsi qu'une diminution de la FSH | -taux basal d'E2 -↑ rapide P4 - pic de LH -↑FSH | -E2↓ - un pic de P4 (15-90ng /ml) survient 3-4 semaine après le début du Métœstrus puis baisse à un taux basal (<1ng/ml), - les pulsations de LH continuent d'augmenter jusqu' à la fin de Métœstrus -↓FSH | -E2 fin d'anœstrus -↓P4 -↑LH et FSH à la fin de l'anœstrus |
| Physiologique | Développement de follicule de De Graaf | Ovulation d'ovocyte primaire et sa transformation en ovocyte secondaire par méiose Avec le développement du corps jaune | Corps jaune présent chez la chienne gestante et non gestante sécrétant puis régressant | les différents stades de développement et de l'atrésie des follicules antraux |

FSH = follicle stimulating hormone / LH= luteinizing hormone/ P4= progesterone /
GNRH= Gonadotropin releasing hormone/ PRL= prolactine/ CJ= corps jaune/ E2= estrogen /
↑= augmentation/ ↓= diminution

III. Etude des méthodes paracliniques du suivi du cycle :

Le fonctionnement de la reproduction et de l'ovulation chez la chienne est complexe, du coup la période fécondante de la femelle n'est pas facile à cerner ; et c'est pourquoi des techniques de détermination du moment de l'ovulation ont été développées, tels que : le frottis vaginal, l'échographie, la vaginoscopie, le dosage de la progestérone et la résistivité vaginale

- **Le frottis vaginal**

Cette technique se base sur le fait que la paroi du vagin se modifie au cours des chaleurs, suite à la sensibilité de l'épithélium vaginal aux changements des taux d'hormones (**König and Liebich, may 2014**) notamment des œstrogènes libérés lors du Pro-œstrus (**Willard and Tvedten, 2012**). Cette technique est tout à fait fiable pour déterminer la période préovulatoire (**FONTBONNE et al., 2011; PIQUEREL**)

Technique :

Après avoir écarté les lèvres de la vulve, on introduit un écouvillon en coton (ou bien une spatule, un bâtonnet de verre ou une pipette) stérile long de 15 cm minimum, humidifié à l'aide d'une goutte de chlorure de sodium à 0,9 % (l'eau distillée ou l'eau du robinet *altèrent* les cellules) tout au long du bord supérieur des lèvres vulvaires afin d'éviter la fosse clitoridienne ou les cellules kératinisées sont fréquentes et peuvent être confondues avec les cellules épithéliales superficielles du vagin (œstrus), c'est un mouvement réalisé avec l'écouvillon vertical. Il est ensuite basculé à l'horizontale et enfoncé doucement, le plus profondément possible, et retiré après quelques mouvements de rotation. Les prélèvements sont étalés sur lame. Il convient de faire rouler le coton sur la lame de microscope et surtout de ne pas froter ni de repasser deux fois au même endroit afin de ne pas altérer les cellules. Cet étalement doit être réalisé immédiatement après le prélèvement pour éviter la dessiccation. La lame est séchée à l'air et plongée cinq minutes dans un mélange alcool-éther pour prévenir la détérioration ou la déformation des cellules. (**Kustritz, 2003; Raskin and Meyer, 2010**)

Après la fixation, on entame la coloration soit immédiatement ou ultérieurement jusqu'à 15 jours. Les colorants les plus utilisées sont : le Bleu de méthylène qui permet une coloration rapide mais ne permet pas la conservation des lames, le colorant de May-Grünwald-Giemsa, rapide mais ne colore bien que les cellules sanguines et les noyaux, le colorant de Harris-Shorr

qui concilie une meilleure visualisation des cellules au prix d'une mise en œuvre plus longue, ce qui limite l'intérêt de cette méthode **(Raskin and Meyer, 2010)**

Une fois l'échantillon coloré, on entame l'observation microscopique : d'abord par un faible grossissement pour apprécier la répartition des cellules (en amas dispersés ou isolés)

Ensuite par un fort agrandissement qui nous fournira des informations indispensables pour reconnaître les types cellulaires trouvés, tels que : La morphologie, la couleur de la cellule, la taille et l'aspect du noyau



Figure 5 : Technique d'écouvillonnage chez la chienne (MIMOUNI and LEVY, 2012)

◆ Les cellules épithéliales vaginales

L'épithélium vaginal est de type stratifié pavimenteux non kératinisé ou épithélium malpighien. Une couche de cellules germinatives repose sur une lame basale. Depuis cette couche vers la lumière utérine, on trouve successivement des cellules parabasales, des cellules intermédiaires (issues de la différenciation des cellules parabasales), puis des cellules superficielles comme expliqué dans le schéma suivant : **(Raskin and Meyer, 2010)**

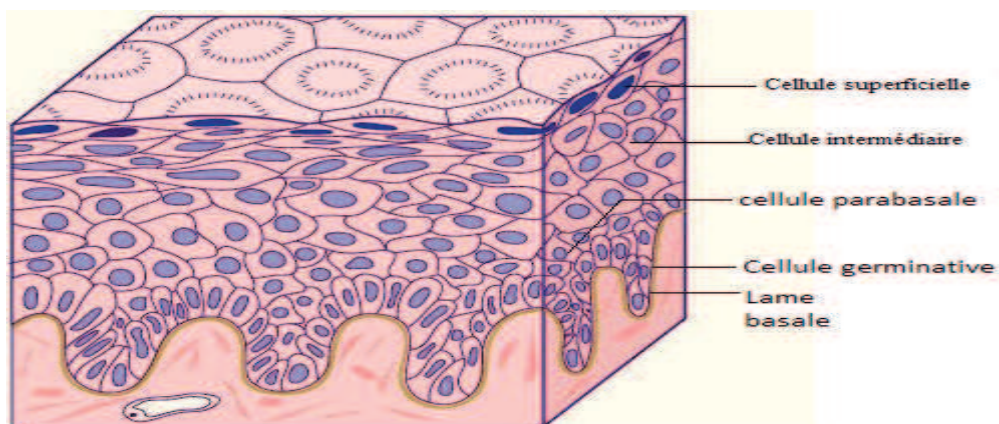


Figure 6 : Epithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié (d'après la division d'histologie du département de médecine de l'université de Fribourg) (LUC, 2005).



Figure 7: Les cellules du frottis vaginal d'après Neveux 1999 (LUC, 2005)

• L'échographie ovarienne

Il est possible grâce à un appareil d'échographie de repérer l'ovulation et plus précisément les follicules qui croient tout au long des chaleurs et donc de suivre leur évolution en corps jaune

- *Instrumentation et technique d'examen*

quand les anses sont intestinales sont remplies, elles peuvent gêner la visualisation des ovaires, c'est un problème que l'on peut éviter en changeant de position (debout) (TAVERNE and WILLEMSE, 1989) ou bien en augmentant la pression de la sonde. Une sonde de 7.5 ou 10 MHZ et de petite surface est idéale pour évaluer les petites structures tels que les ovaires (Penninck and d'Anjou, 2008).

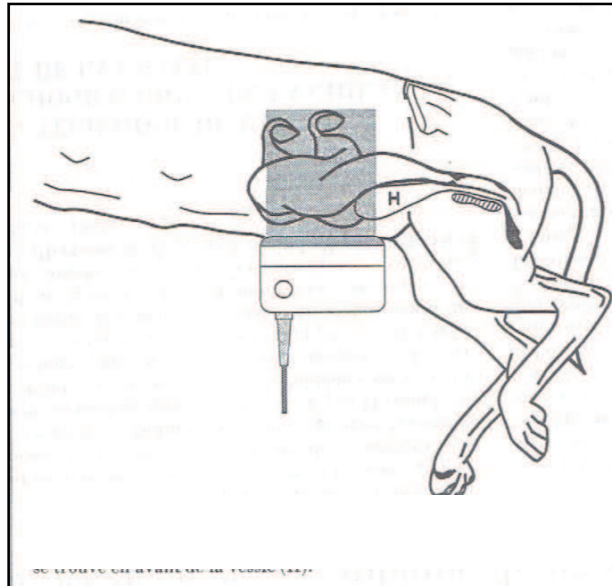


Figure 8 : Echographie sur une chienne en décubitus latéral utilisant une sonde linéaire selon (KAHN, 1994)

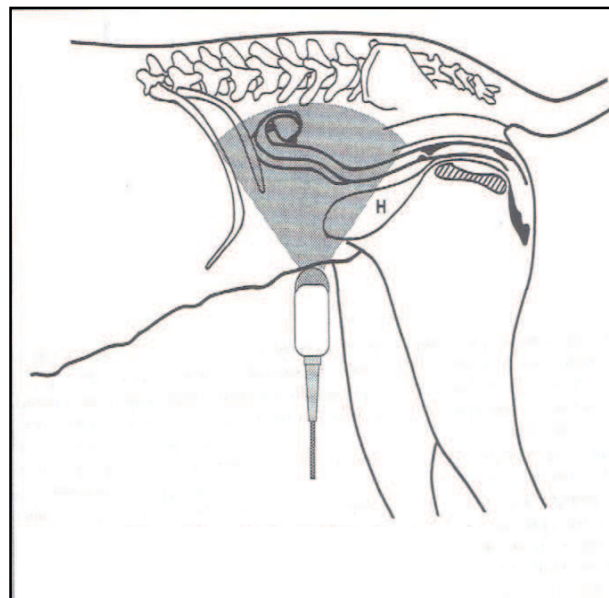


Figure 9 : Echographie sur une chienne debout utilisant une sonde sectorielle selon (KAHN, 1994)

- Maturation folliculaire ovulation et formation du corps jaune (NAUTRUP and TOBIAS, 2005) :

L'apparence des ovaires change à l'échographie durant le cycle sexuel. Pendant l'anœstrus et le début du pro-œstrus : ils sont petits, de forme ovale, et ont une échogénicité homogène, semblables au cortex rénal.

Les follicules, d'abord remplis d'un liquide anéchogène, se transforment en des corps jaunes hypoéchogènes sécrétant des taux élevés de progestérone.

Les kystes folliculaires préovulatoires, anéchogènes, sont identifiés du 2ème au 7ème jour du pro-œstrus, en moyenne. De nombreuses petites cavités anéchogènes sont repérées, qui grossissent progressivement jusqu'à l'ovulation. Les plus grands follicules se distinguent par une paroi mince distincte du liquide central anéchogène. La taille de ces follicules peut atteindre une taille de plus de 1 cm lorsque l'ovulation approche. La surface des ovaires peut être irrégulière. Lorsque les follicules grossissent, la taille des ovaires augmente aussi et ils deviennent plus faciles à visualiser.

L'ovulation peut être détectée : lorsque le nombre et la taille des follicules décroît d'un jour à l'autre, lorsque un grand follicule demeure sur un ovaire ou lors d'absence de follicules sur les ovaires le jour de l'ovulation. Dans une autre étude, l'aspect anéchogène des follicules se transforme de façon spectaculaire en un mélange d'hypoéchogénicité et d'hyperéchogénicité. Les ovaires changent de forme : ils sont plus bombés et sont fréquemment multilobés. Des structures kystiques anéchogènes peuvent toujours être observées, elles sont indiscernables des follicules ; leur nombre et leur taille sont réduits. Chez la plupart des chiens, ces structures anéchogènes qui ne sont autres que des corps jaunes grossissent progressivement, puis décroissent et/ou deviennent plus échogènes.

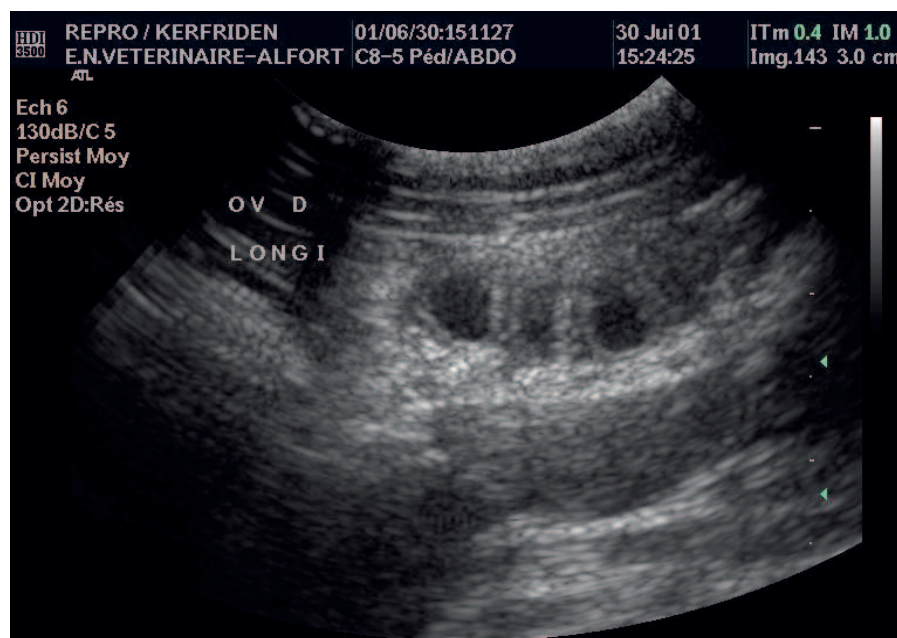


Figure 10 : Image échographique au cours du pro-œstrus : on observe ici plusieurs cavités avec un aspect « en nid d'abeille» d'après (BARON, 2006)

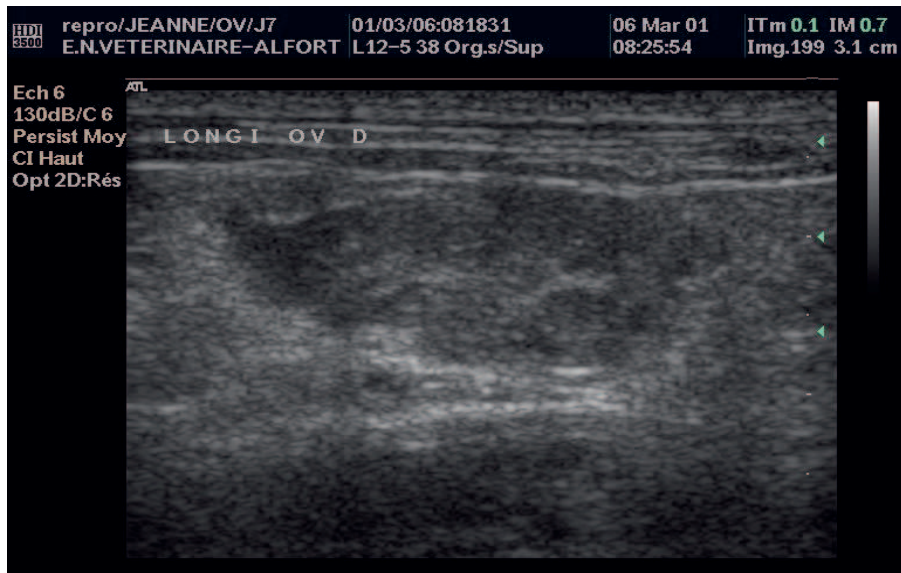


Figure 11 : Image échographique au cours de l'œstrus : collapsus folliculaire, d'après (BARON, 2006)

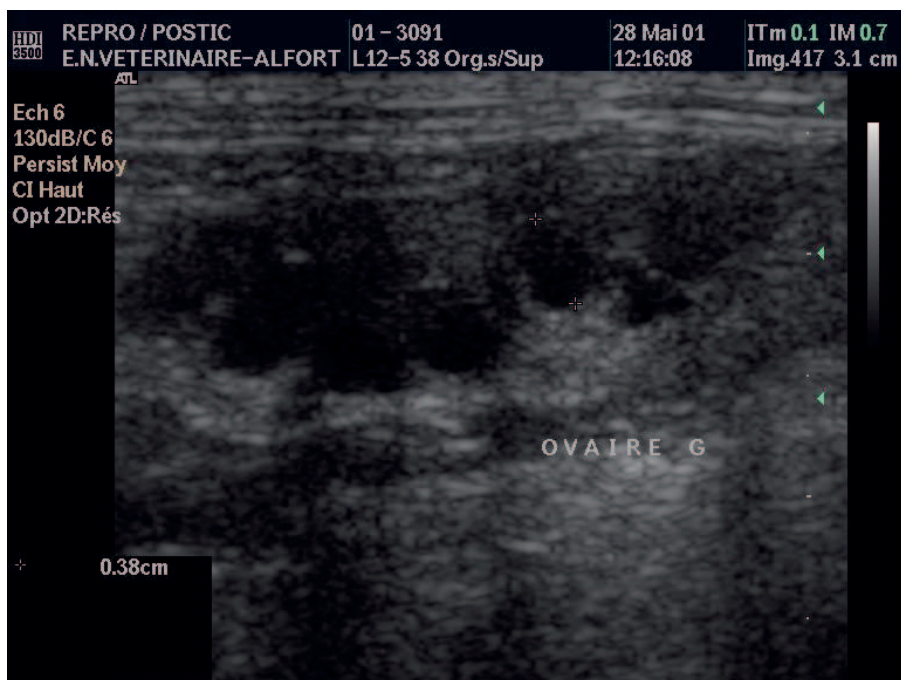


Figure 12 : Image échographique après ovulation : l'aspect est similaire à celui observé en période préovulatoire (BARON, 2006)

- **La vaginoscopie**

Endoscopie vaginale ou vaginoscopie est l'examen de la surface de la muqueuse vaginale, appliquée généralement à l'aide d'un endoscope rigide dotée d'un système à fibres optiques, des étendues flexibles peuvent également être utilisées. La Vaginoscopie peut également être effectuée par visualisation directe sans grossissement, en utilisant une sonde rigide : rectoscope pédiatrique humain. La procédure se fait sur chienne non sédaturée, debout. L'examen peut prendre aussi peu que 2 minutes. L'évaluation pour la gestion de l'élevage est basé sur l'observation de la muqueuse : plis, couleurs, fluide présent et les changements au cours des phases du cycle sexuel (**England and Concannon, 2002**)

L'équipement de la vaginoscopie Canine comprend une source lumineuse et un câble à fibre optique, un télescope de 3 mm de diamètre et une poire en caoutchouc pour l'insufflation d'air. On trouvera également un équipement utilisé pour l'insémination intra-utérine, y compris des cathéters métalliques avec des gaines en matière plastique, et un cathéter souple qui peut être introduit à travers le speculum utérin(**England and Concannon, 2002**).

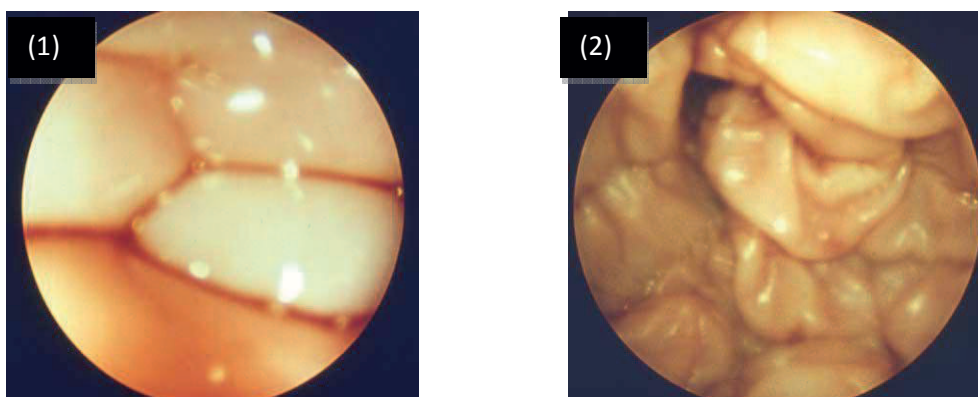


Figure 13 : Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale au moment du pro-œstrus (1) et de l'œstrus (2) selon (**FONTBONNE et al., 2011**)

- **Le dosage de la progestérone :**

L'utilisation du dosage de cette hormone est surtout utilisée chez la chienne dans le cadre de suivi du cycle sexuel et qui se base sur une particularité physiologique déjà citée :

la lutéinisation préovulatoire des follicules. En effet, chez la chienne, la sécrétion de progestérone débute avant l'ovulation

La progestérone peut être dosée de manière quantitative par méthode radio-immunologique (RIA) ou par chimiluminescence, ou bien par méthodes semi-quantitatives par des kits ELISA.

Le taux de progestérone se situe dans des valeurs basales inférieures à 1 ng/ml pendant l'anœstrus et au début du pro-œstrus, puis il augmente juste avant, en même temps ou juste après le pic de LH.

Il semble que les valeurs du taux de progestérone mesurées par RIA donnent des valeurs plus élevées que celles mesurées par chimiluminescence (**Fontbonne, 2008**), ce qui pourrait expliquer les différences de valeurs de certaines études.

On peut également mesurer le taux de progestérone au moment de l'ovulation. Plusieurs auteurs démontrent que le taux de progestérone au moment de l'ovulation est d'environ 5 ng/ml (**Fontbonne, 2008; Prelaud et al., 2003**), d'ailleurs ces derniers affirment que cette méthode est très précise pour déterminer le moment de l'ovulation car le taux de progestérone à ce moment là est constant, quelque soit la race.

Le dosage de la progestérone est une méthode fiable pour déterminer le moment de l'ovulation. Cependant, les laboratoires effectuant des dosages quantitatifs de progestéronémie doivent être étalonnés car la valeur absolue obtenue est propre à chaque laboratoire. Pour cela, les laboratoires utilisent plusieurs échantillons de plasma de chiennes ayant ovulées de façon certaine, ils les dosent et déterminent ainsi leur propre valeur de progestéronémie correspondant à l'ovulation.

La plupart des vétérinaires n'ayant pas à leur disposition le matériel pour réaliser ces dosages quantitatifs, ils utilisent des kits colorimétriques semi-quantitatifs (méthode ELISA) qui ne permettent pas d'avoir une valeur exacte de progestéronémie

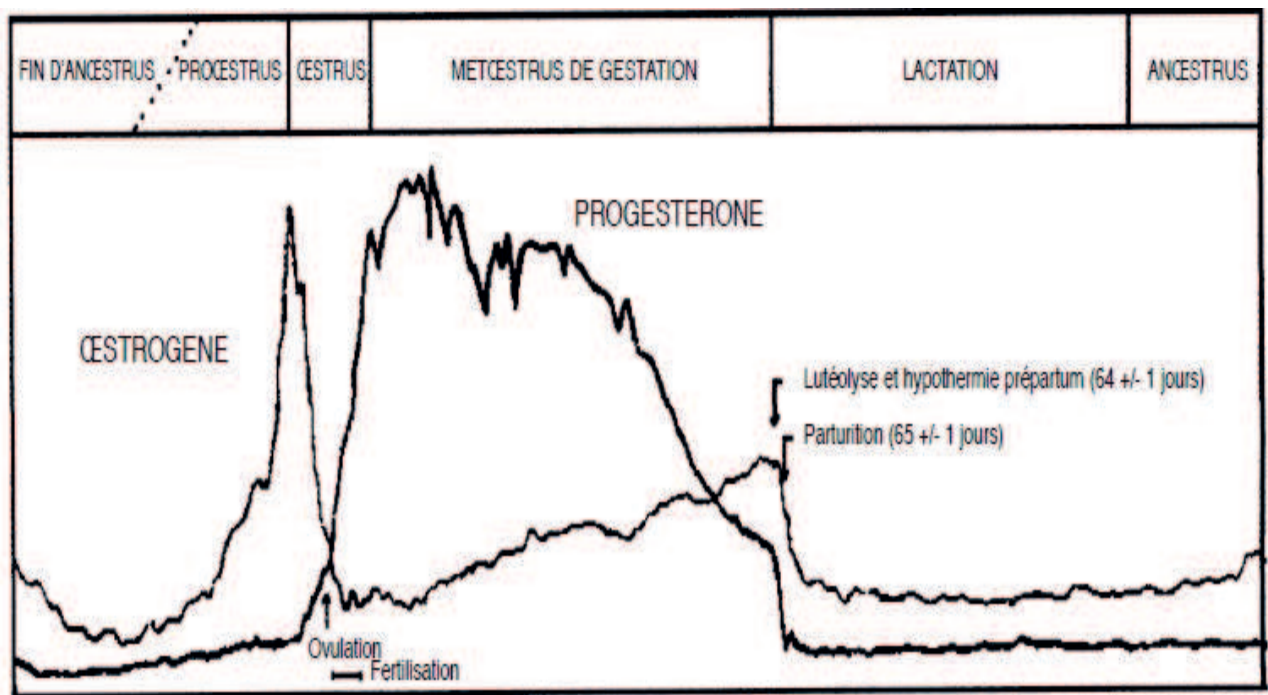


Figure 14 : Évolution de la progestéronémie au cours du cycle sexuel de la chienne selon **(CONCANNON et al., 1978)**

- **La résistivité vaginale :**

La conductance électrique du mucus vaginal se modifie au cours des chaleurs : la résistivité Vaginale est proportionnelle à la kératinisation de l'épithélium vaginal.

Chez la chienne, la conductance augmente lors du pro-œstrus, atteint son maximum au moment du pic de LH, puis s'effondre au début du métœstrus. On mesure cette conductance à l'aide d'une électrode vaginale reliée à un ohmmètre **(Corneloup, 2011)**.

Chez la chienne on peut déterminer les périodes non fécondes, mais la méthode ne permet de détecter précisément ni le pic de LH ni l'ovulation.

Par contre, cette technique donne de bons résultats si on l'associe aux dosages de progestérone.

En pratique, elle demeure peu utilisée car nécessite l'achat d'une sonde, et demeure moins précise que les frottis vaginaux et surtout que cette technique pose le problème du risque de transmission de maladies **(Corneloup, 2011)**.

I. Introduction et Objectifs :

Le suivi de chaleurs a pour but de déterminer le moment optimal de fécondité. Les chiennes sont suivies dès que le propriétaire signale l'apparition des événements suivants: écoulements vulvaires (premier signe visualisé en général), œdème de la vulve.

De plus durant le proœstrus, nous savons que la progestéronémie est inférieure à 2ng/ml de Sérum.

L'objectif de notre étude était de faire un suivi des chaleurs par différentes méthodes : cytologiques (monochromes et trichromes), hormonales et échographiques, de comparer entre elles et de trouver le moyen le plus fiable pour un diagnostic d'ovulation le plus précis. Un autre but est celui de suivre l'évolution échographique des ovaires pendant la période péri-ovulatoire pour voir s'il est possible de déterminer le moment de l'ovulation de façon certaine et si l'échographie peut remplacer ou non les méthodes traditionnelles de suivi comme les dosages de progestérones qui sont coûteux et contraignants pour l'animal et son propriétaire.

II. MATERIEL ET METHODES

1) Description générale du lieu de l'expérimentation (CRFC/GN de BAINEM):

L'expérimentation a été réalisée au niveau du **Centre de Reproduction et de Formation Cynotechnique de la Gendarmerie Nationale de Bâiném (CRFC/GN)**, au sein de la clinique vétérinaire. Cette dernière est composée de 2 services : un service de reproduction et un service de médecine vétérinaire

Le service de médecine vétérinaire comporte une salle de consultation et soins, une salle d'imagerie, un bloc chirurgical, une pharmacie et un laboratoire.

Le service de reproduction est constitué d'un laboratoire de reproduction, d'une salle de consultation et de soins, d'un bloc de maternité et de néonatalogie, un bloc de gestation et un bloc quarantaine et 2 ring : un gazonné, qui contient des obstacles pour les chiots et un autre gravillonné

La période expérimentale s'étale sur 6 mois et 15 jours et allant du 24 octobre 2016 jusqu'au 08 Mai 2017

2) Le cheptel canin :

Le cheptel expérimental est constitué de 10 Chiennes (n=10) qui sont nourries en fonction de l'âge (chiots, adultes), de l'état physiologique (gestation, lactation) avec un aliment sec industrialisé type croquette de haute qualité (premium), abreuvées à volonté (Ad Libitum) et vivent dans des conditions sanitaires et psychologiques optimales, utilisées non seulement pour la reproduction mais aussi pour le travail (chiennes de recherches)



Figure 15 : Photographies personnelles des différents types d'aliments distribués aux chiennes

([®] CRFC/GN de Bâiném)

Les 10 femelles sont âgées de 5 ans en moyenne et pèsent dans les 26 kg, appartiennent à la race de Berger Belge Malinois

3) Suivi du cycle

En collaboration avec l'équipe vétérinaire du CRFC, on a convoqué chaque chienne accompagnée par son maître au niveau du service de reproduction de la clinique

A. Examen clinique :

A chaque visite, les femelles sont soumises à un examen général (poids, température, l'état d'hydratation, des muqueuses et d'embonpoint) puis un examen spécial de l'appareil génital, à la recherche des signes cliniques : tels que la tuméfaction vulvaire, les écoulements sanguinolents et l'état de la muqueuse vulvaire ainsi que les signes comportementaux (reflexe d'Amantéa, signe de lordose, acceptation ou refus du mâle), cependant ce dernier reste toujours un moyen non précis et très subjectif lors du suivi du cycle



Figure 16 : photographies personnelles de la vulve de 2 chiennes en chaleurs dont la figure 16(A) représente la tuméfaction vulvaire et la figure 16 (B) l'écoulement sanguin (® CRFC/GN de Baïnem)

B. Examen cytologique vaginal :

➤ La réalisation

On introduit un écouvillon de 15 cm humidifié le long du bord supérieur des lèvres vulvaires pour éviter la fosse clitoridienne, Puis l'écouvillon est redressé horizontalement et enfoncé doucement et le plus profondément possible et retiré après quelques mouvements de rotation



Figure17 : photographies personnelles des différentes étapes de l'introduction de l'écouvillon
(® CRFC/GN de Baïnem)

- Étalement

L'écouvillon est immédiatement roulé sur une lame sans écraser ni faire passer deux fois au même endroit



Figure18 : photographie personnelle de la technique d'étalement (® CRFC/GN de Baïnem)

➤ Fixation et coloration

Diff quick (kit RAL 555)

C'est une variante rapide de la coloration de May-Grünwald Giemsa, en milieu aqueux tamponné qui consiste à faire de brèves immersions de 5 secondes consécutives dans les 3

flacons et égoutter entre chaque flacon (flacon 1 : FIX-RAL 555, flacon 2 : EOSINE-RAL 555, flacon 3 : BLEU-RAL 555) puis les lames rincées à l'eau sont séchées à l'air



Figure 19 : photographie personnelle du Diff-Quick (® CRFC/GN de Bâinem)

HARRIS SHORR

C'est une coloration trichrome qui associe un colorant nucléaire : l'Hématoxyline de Harris et un colorant cytoplasmique formé d'un mélange de produits : le colorant de Shorr et qui nécessite une préparation

o Complet :



Figure 20 : photographie personnelle du colorant d'Harris Shorr complet (® CRFC/GN de Bâinem)

La lame est plongée dans les 14 flacons préparés, cette coloration prend en total 20 minutes selon le tableau suivant proposé par neveux :

Tableau 3 : Technique de coloration d'Harris-Shorr complet

| Ordre de passage | Solution | Durée |
|-------------------------|------------------------|-----------------|
| 1 | Fixation alcool-éther | 5 minutes |
| 2 | Alcool à 70° | Plonger 10 fois |
| 3 | Alcool à 50° | Plonger 10 fois |
| 4 | Eau distillée | Plonger 10 fois |
| 5 | Hématoxyline de Harris | 2 minutes |
| 6 | Eau distillée | 1 passage |
| 7 | Eau distillée | 1 passage |
| 8 | Alcool ammoniacal | 1 minute |
| 9 | Eau distillée | 1 passage |
| 10 | Alcool à 70° | 1 passage |
| 11 | Alcool à 95° | 1 passage |
| 12 | Colorant de Shorr | 2 minutes |
| 13 | Alcool à 95° | 1 passage |
| 14 | Alcool à 100° | 1 passage |

○ Simplifié :

Un nouveau protocole de coloration rapide a été proposé par les laboratoires RAL. Il consiste en une simplification de la technique de coloration afin de la raccourcir à deux minutes au lieu de 20 et ainsi de la rendre applicable en clientèle vétérinaire quotidienne.

Tableau 4 : Technique de coloration d'Harris-Shorr simplifié

| Ordre de passage | Produits | Temps |
|------------------|--------------------------|-------------|
| 1 | mélange alcool-éther 1/2 | 5 minutes |
| 2 | alcool à 70° | 5 passages |
| 3 | eau distillée | 5 passages |
| 4 | hématoxyline de Harris | 5 passages |
| 5 | eau distillée | 5 passages |
| 6 | alcool ammoniacal | 5 passages |
| 7 | alcool à 95° | 5 passages |
| 8 | colorant de Shorr | 10 passages |
| 9 | alcool absolu | 5 passages |

➤ **Observation microscopique**

L'observation a été faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire du modèle Optika muni d'un oculaire d'un grossissement de 10 et de 4 objectifs d'agrandissement de X4,X10,X40,X100

Les frottis étaient visualisés d'abord par un faible grossissement (x10) dans leur totalité. Ce grossissement nous a permis d'apprécier la richesse en cellules et leur répartition (dispersées, en amas ou isolées), la qualité de la coloration, l'aspect du fond du frottis et l'éventuelle présence de débris. Puis par un fort grossissement (x40) qui donne des informations plus précises sur les types cellulaires rencontrés. L'identification des types cellulaires présents sur le frottis vaginal a été réalisée suite à : La morphologie de la cellule, la taille et l'aspect du noyau

Le calcul de l'indice cytologique : un comptage cellulaire a été fait sur 40 cellules vaginales

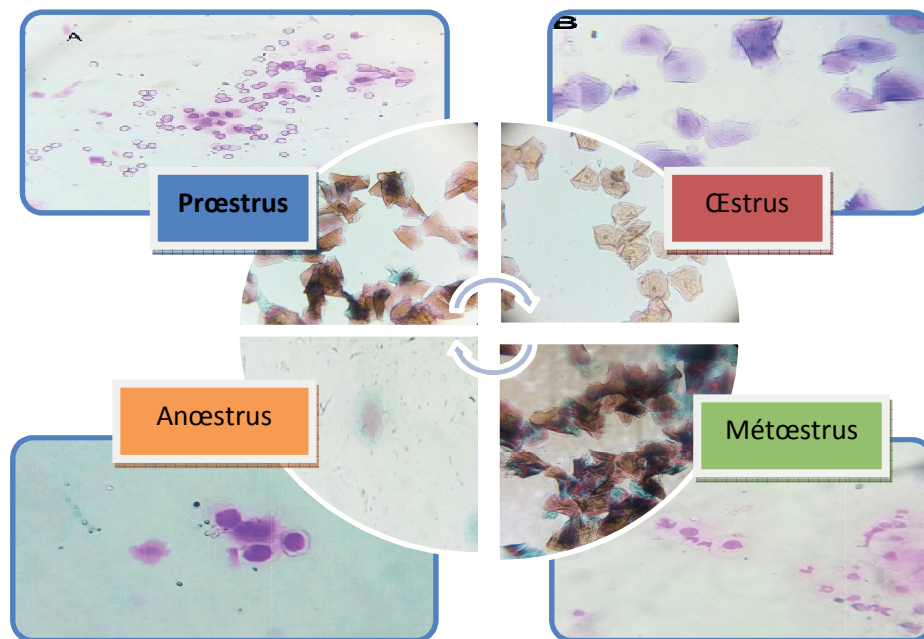


Figure 21 : Microphotographies personnelles des lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle œstral par les deux colorations ; HARRIS SHORR et le DIFF-QUICK (® CRFC/GN de Baïnem)

C. Dosage de la progestérone

Les prélèvements sanguins sont faits à partir de la veine radiale à l'aide d'une seringue de 10 ml, et vidées dans des tubes héparinés pré-identifié

Ce sang est directement séparé à l'aide d'une centrifugeuse à 6 tubes de la marque NÜVE modèle **NF 615** made in ANKARA TURKEY à 3000 tours pendant 10 min, puis à l'aide d'une micropipette 20-200 µl on recueillait le plasma dans des cônes Ependorf secs pré-identifiées qui sont congelés jusqu'à acheminement vers le laboratoire à 7°C ou le prélèvement sera analysé par l'appareil **Mini Vidas Biomérieux**

Faute de temps et suite à quelques empêchements, on n'a pas pu terminer ces dosages et on s'est arrêté à cette étape

D. Examen échographique

* Description de L'appareil (**MyLab™ Five VET d'Esote**)

Le système **MyLab™ Five VET** est doté d'un progiciel dédié à l'imagerie vétérinaire entièrement configuré et d'une batterie intégrée qui garantit de pouvoir effectuer un examen

échographique en tout lieu, à tout moment .Des fonctions telles que : la création de mesures et de rapport, l'accès des applications par une icône et des repaires corporelles sont inclus .Le **MyLab™Five VET** est équipé d'un moniteur couleur LCD de 15" haute résolution TFT et son faible encombrement associé à sa conception ergonomique améliorent l'efficacité de l'utilisateur, avec des ports USB intégrés pour le stockage d'images et des clips au format BMP, AVI ou au format DICOM dans un système de gestion des données **MyLab™Desk** supportant plus que 250 Go, ainsi qu'une carte réseau intégrée pour la connexion directe à un LAN et la capacité de connexion sans fil



Figure 22 : photographie personnelle de l'échographe utilisé lors de la partie expérimentale au niveau du CRFC

([®] CRFC/GN de Baïnem)

MyLab™Five VET dispose de sondes spécialisées dédiées à l'imagerie vétérinaire :

1-sonde linéaire 50mm ; fréquences 4-13 Mhz (**LA 523**) munie d'un réseau linéaire à bande variable pour imagerie vasculaire, petits organes, procédures avec agents de contraste, rhumatologie, anesthésiologie

2- sonde micro convexe 14 mm ; fréquences 3-9 Mhz pour imagerie néonatale, abdominale, vasculaire (**CA 123**)



Figure 23 : photographie personnelle de la sonde linéaire (**LA 523**) (® CRFC/GN de Bâinem)



Figure 24 : photographie personnelle de la sonde micro convexe (**CA 123**) (® CRFC/GN de Bâinem)

Cet échographe est caractérisé par :

- XHF - Largeur de bande jusqu'à 18 Mhz sur les transducteurs linéaires pour obtenir une imagerie de précision ultra détaillée, en particulier dans les explorations très superficielles
- XView - vue extrême avec algorithme adaptatif en temps réel
- MView et CFM : imagerie par ultrasons combinée standard et orientée, pour détecter toutes les structures anatomiques et imagerie en mode Doppler Couleur
- TPView pour élargir le champ de vision, en particulier dans les examens mammaires et vasculaires
- CnTI™ - Imagerie de contraste ajusté pour procédures avec agents de contraste

* **Technique**

La chienne est placée en décubitus latéral, puis les poils des deux flancs sont tondu. De l'alcool et du gel de contact échographique sont appliqués pour chaque examen sur les régions tondues. La sonde linéaire (**LA 523**) de l'appareil est ensuite placée caudalement à la cage thoracique au niveau de la région postérieure de l'hypochondre ; l'ovaire est localisé en trouvant le rein du côté correspondant après un balayage crânio-caudale et medio-latéral de ce dernier, ensuite : la forme de l'ovaire, sa taille ainsi que les structures ovariennes sont notées



Figure 25 : photographies personnelles des différentes étapes de la préparation de l'animal à l'échographie ainsi qu'une image échographique du résultat obtenu (® CRFC/GN de Bâinem)

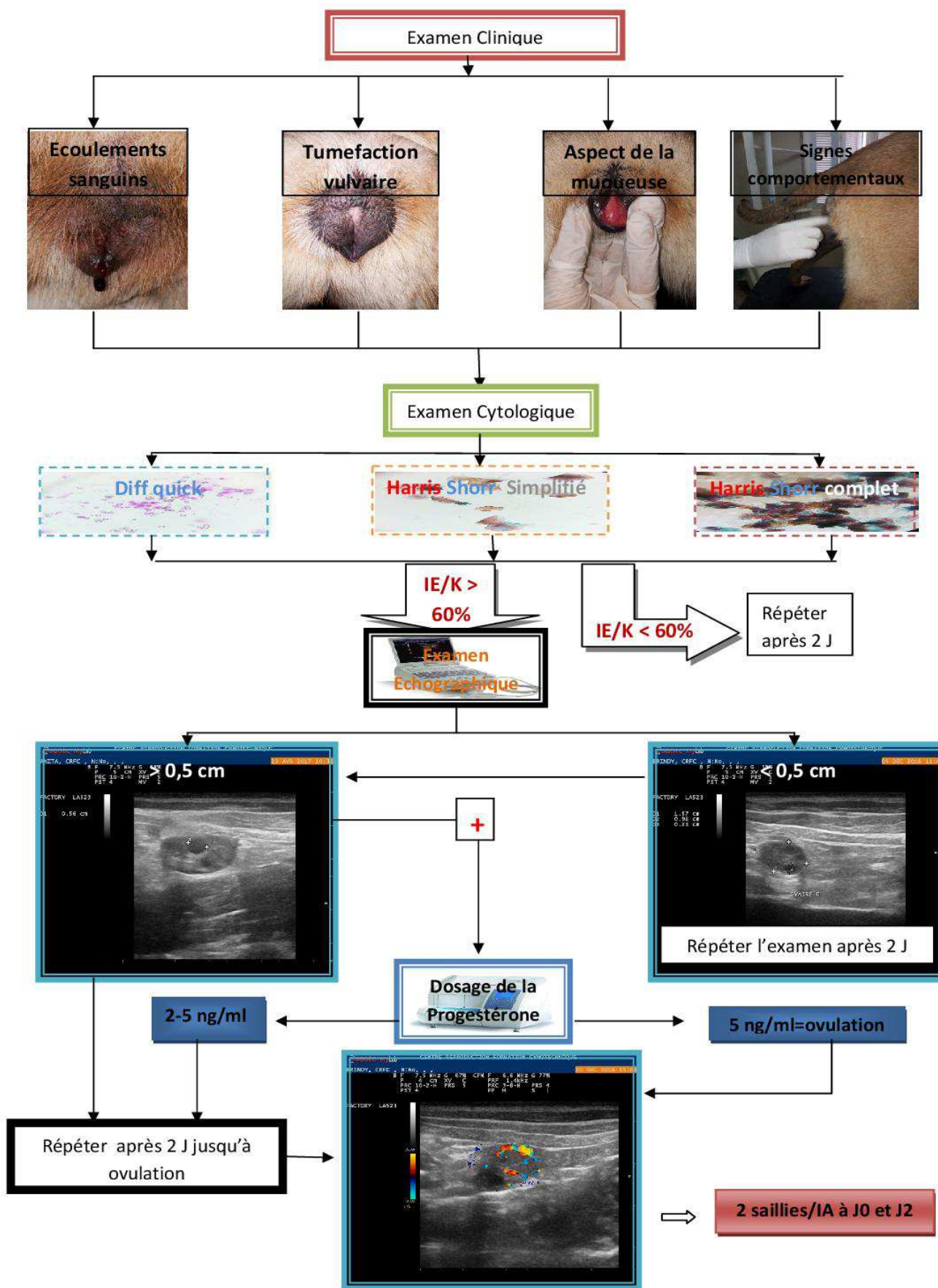
E. La résistivité du mucus vaginal

On introduit un ohmmètre dans le vagin de la chienne avec un angle de 45° pour éviter la fosse clitoridienne et le méat urinaire ceci après avoir désinfecter soigneusement l'appareil, une fois à l'intérieur on exécute 2 a 3 tours et on appuie sur le déclencheur suite a quoi deux turet s'affichent, on appuie 3 fois et le resultat s'affiche, on fait sortir l'appareil du vagin et on le redésinfecte. Cependant on a pas pu collecter assez de données pour pouvoir les presenter et les discuter



Figure 26 : photographie personnelle montrant l'appareil qui mesure la résistivité vaginale (® CRFC/GN de Bâinem)

LE PROTOCOLE EXPERIMENTALE



I. Résultats des données cytologiques :

Après la coloration des lames déjà expliquée précédemment, nous avons procédé à l'observation microscopique, d'abord sous le grossissement X10 après sous grossissement x40 afin d'apprécier les différents types cellulaires

Les images observées sont représentées dans les tableaux suivants :

Figure 27: Microphotographies personnelles de lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle œstral par les trois colorations ; **Harris Shorr Complet**, **Harris Shorr Simplifié** et le **Diff-quick** par faible grossissement (X100) (® CRFC/GN de Bainem)


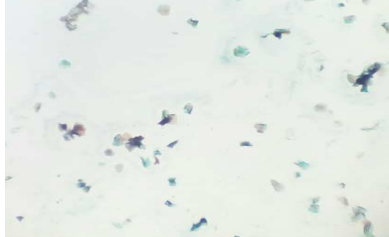
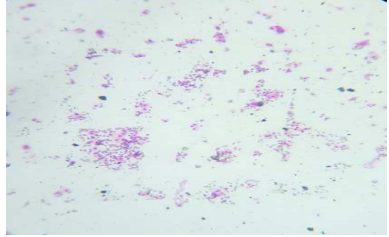
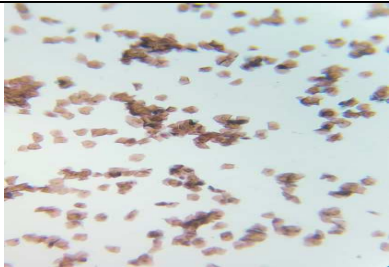

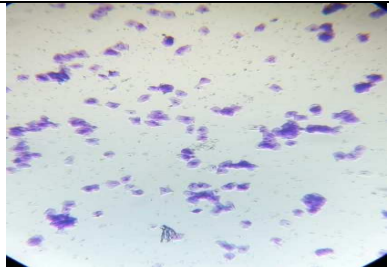

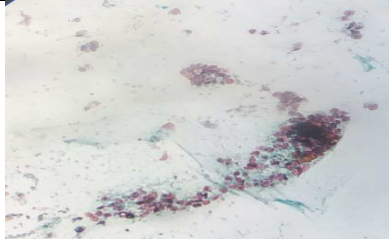
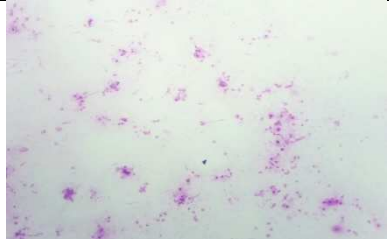
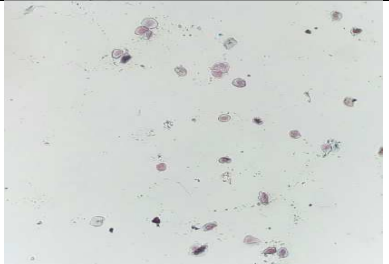
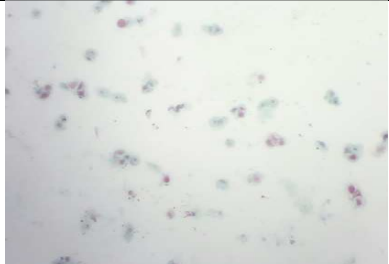
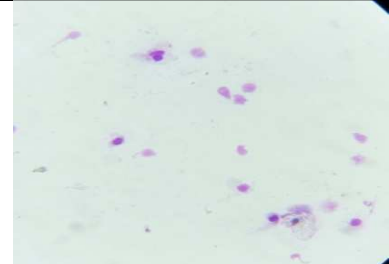
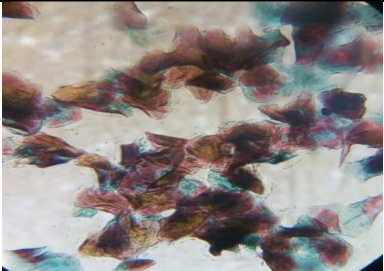
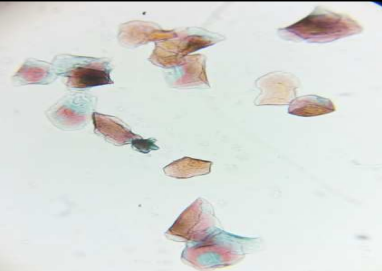
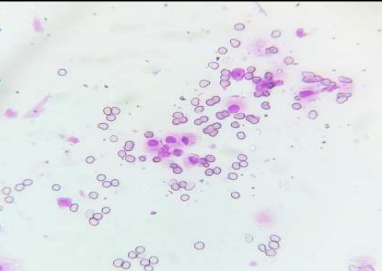
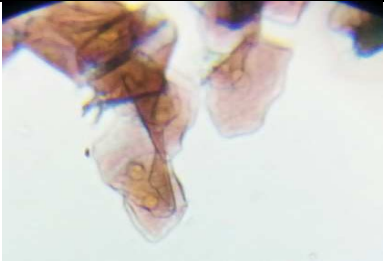

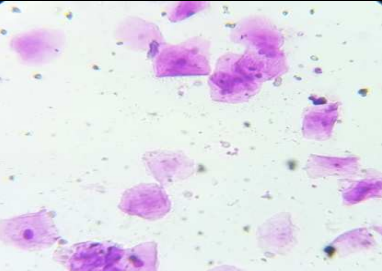
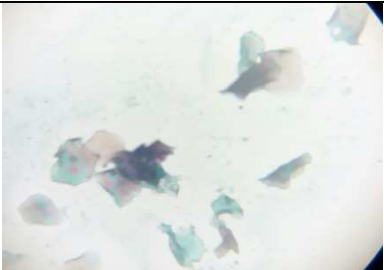
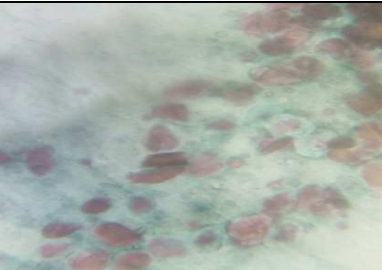
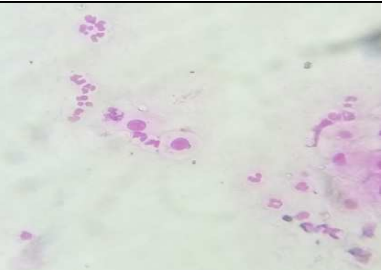
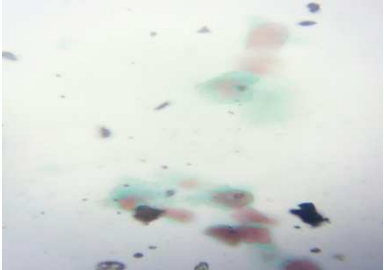
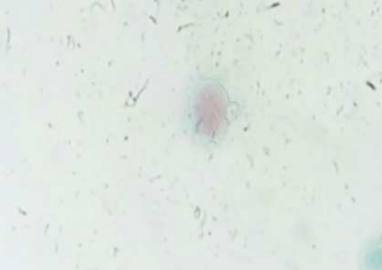
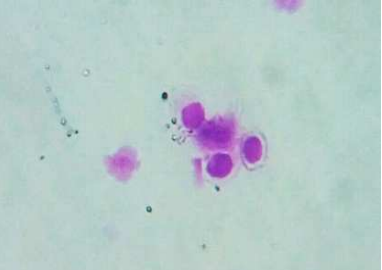
| | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| PROESTRUS X100 | | |
| Harris Shorr Complet | Harris Shorr Simplifié | Diff-quick |
|  |  |  |
| OESTRUS | | |
|  |  |  |
| MOTOESTRUS | | |
|  |  |  |
| ANOESTRUS | | |
|  |  |  |

Figure 28 : Microphotographies personnelles de lames de frottis vaginaux aux différents stades du cycle oestral par les trois colorations ; **Harris Shorr Complet**, **Harris Shorr Simplifié** et le **Diff-quick** par fort grossissement (X400) (® CRFC/GN de Bâinem)

| PROESTRUS X400 | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Harris Shorr Complet | Harris Shorr Simplifié | Diff-quick |
|  |  |  |
| OESTRUS | | |
|  |  |  |
| MOTOESTRUS | | |
|  |  |  |
| ANOESTRUS | | |
|  |  |  |

De ces observations microscopiques on a remarqué que l'**Harris Shorr Simplifié** présentait une coloration plus claire par rapport à l'**Harris Shorr complet**, de plus ; le colorant disparaissait au fur et à mesure de la conservation des lames donc il requiert une lecture immédiate contrairement à l'**Harris Shorr complet** et au **Diff-quick**

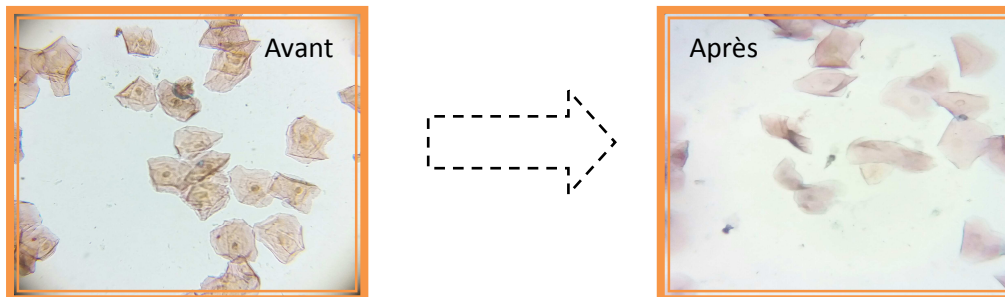


Figure 29 : Des microphotographies personnelles montrant la disparition du colorant après quelques temps de sa réalisation (® CRFC/GN de Bainem)

Cela dit les colorations trichromes ne nous permettaient pas l'observation des autres cellules autres que épithéliales comme les **hématies** et les **polynucléaires**, chose que le **Diff-quick** nous le permettait largement comme montré dans les images suivantes :

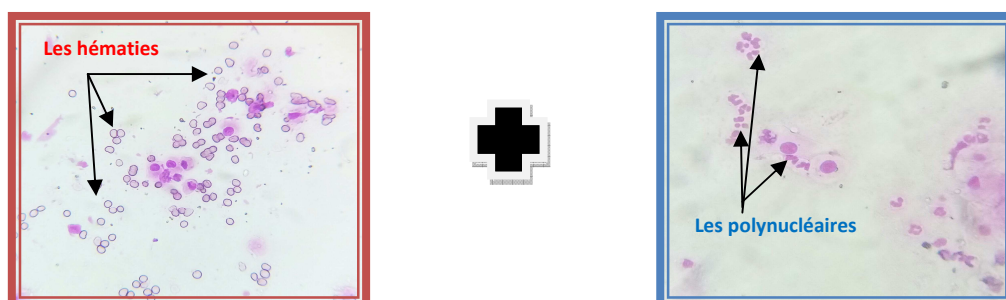


Figure 30 : Microphotographies personnelles expliquant la mise en évidence des hématies et polynucléaires sur des lames colorées avec le Diff quick (® CRFC/GN de Bainem)

Suite à cela, nous entamons le calcul de l'**indice éosinophilique** concernant les 2 colorations d'**Harris Shorr complet** et **simplifié** qui est basé sur la réaction de la coloration éosinophilique; cette dernière dépend du dépôt de précurseurs de la kératine dans le cytoplasme des cellules issues des couches superficielles de l'épithélium vaginal.

Cet indice est mis en évidence par la coloration **rougeâtre** des cellules acidophiles des cellules superficielles et des grandes cellules intermédiaires, seules les cellules complètement kératinisées étaient prises en compte (voir Figure31)

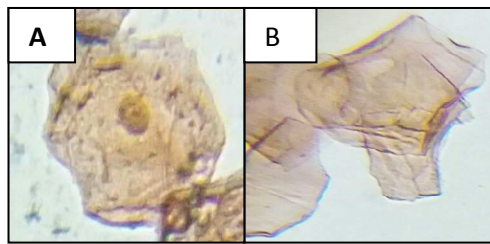


Figure 31 : microphotographies personnelles des cellules superficielles(B) et grandes intermédiaires (A) complètement kératinisées observées sur une lame colorée par l' Harris Shorr (® CRFC/GN de Bâiném)

Le calcul de cet indice a été réalisé en se basant sur un comptage d'un nombre de 40 cellules épithéliales. Selon la richesse en cellules, 3 à 5 champs nous permettaient de visualiser ces 40 cellules

L'indice éosinophilique (IE) est calculé par la relation suivante :

$$IE = \frac{\text{nombre de cellules kératinisées}}{40 \text{ cellules épithéliales dans des champs au hasard}}$$

L'évolution de cet indice durant le cycle est traduite par le graph suivant :

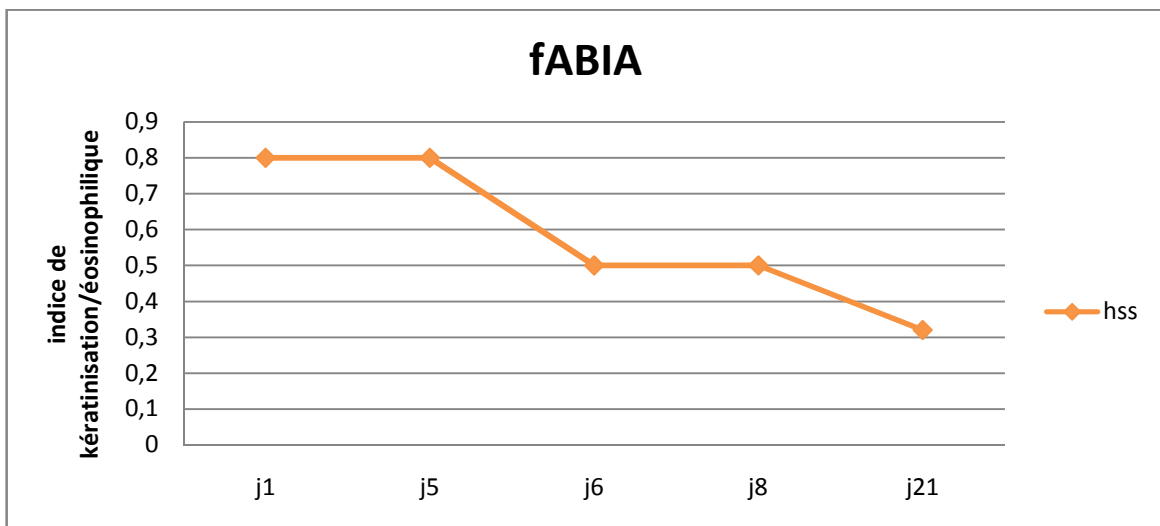


Figure 32 : l'évolution de l'indice éosinophilique calculé sur lame colorée par l'Harris Shorr simplifiée

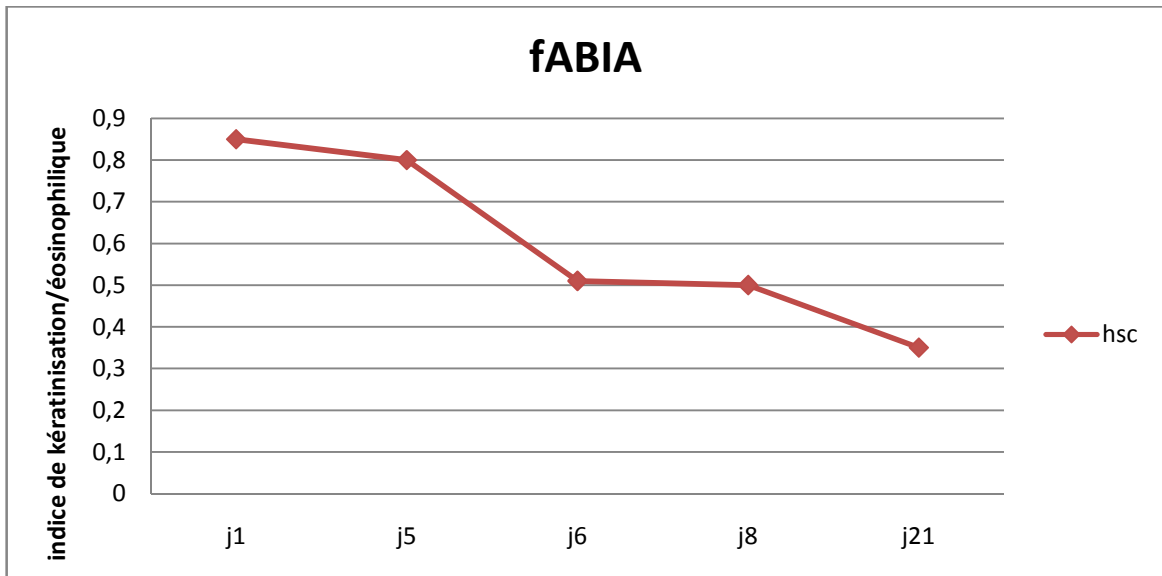


Figure 33 : l'évolution de l'indice éosinophilique calculé sur une lame colorée l'Harris Shorr
Complet

De la même manière on procédait avec les lames colorées par la coloration **Diff quick** sauf que pour ce dernier l'indice cytologique en question est appelé **l'indice de kératinisation**

On a commencé à apprécier **l'indice de kératinisation** concernant ces lames en se basant sur le nombre des cellules superficiels anucléées uniquement (voir Figure34) étant donné que l'interprétation de cette coloration se fait essentiellement par la morphologie



Figure 34 : microphotographie personnelle des cellules superficielles anucléées observées sur une lame colorée par le Diff quick (® CRFC/GN de Bâinem)

Puis **l'indice de kératinisation (IK)** a été calculé en appliquant l'équation suivante :

$$IK = \frac{\text{nombre des cellules superficiels anucléées}}{40 \text{ cellules dans des champs au hasard}}$$

L'évolution de cet indice durant le cycle est traduite sous forme de graph individuel pour chaque chienne dont la chienne suivante :

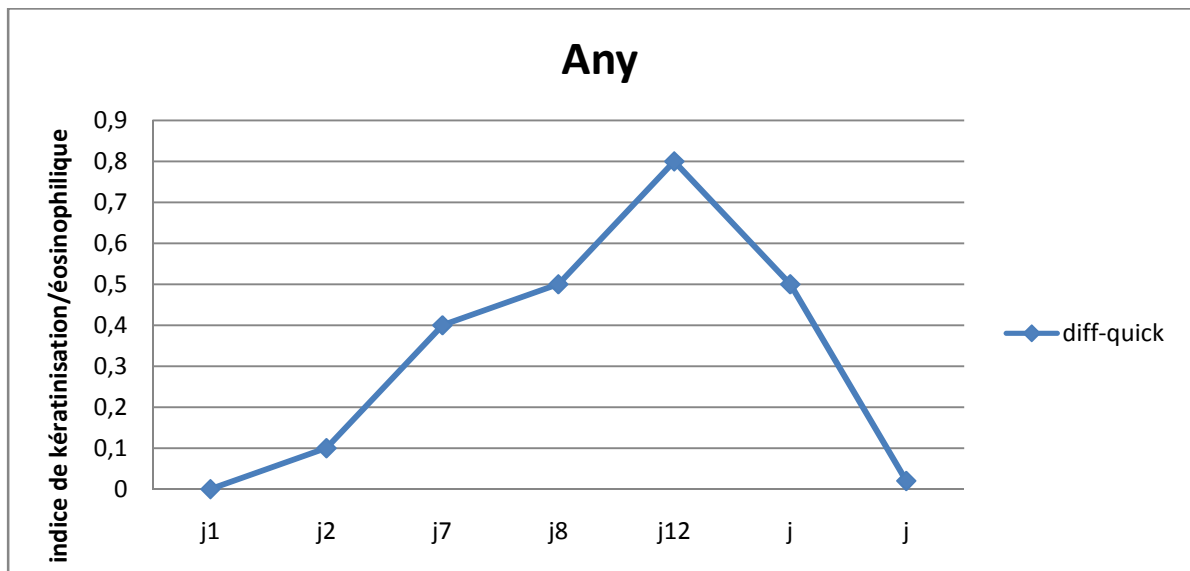


Figure 35 : l'évolution de l'indice de kératinisation calculé après coloration de la lame avec le DIFF-QUICK

Après les calculs de l'indice cytotologique on a classé les résultats de son évolution dans le tableau suivant avec un graph représentatif pour un cycle :

Tableau 5 : les résultats de l'indice éosinophilique et de l'indice de kératinisation

| Diff-quick | Harris Shorr complet | Harris Shorr simplifié |
|------------|-------------------------|---------------------------|
| 0,75 | 0,85 | 0,8 |
| 0,85 | 0,8 | 0,8 |
| 0,5 | 0,51 | 0,5 |
| 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| 0,3 | 0,35 | 0,32 |
| 0,6 | 0,75 | 0,67 |
| 0,7 | 0,85 | 0,78 |
| 0,82 | 0,9 | 0,87 |
| 0,7 | 0,7 | 0,62 |
| 0,82 | 0,9 | 0,87 |

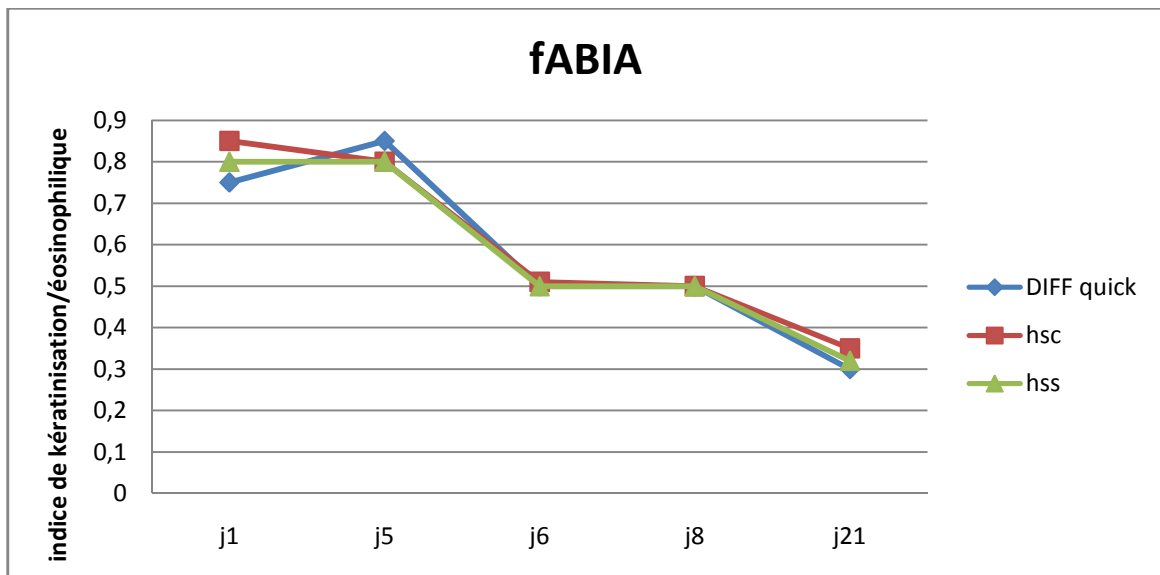


Figure 36 : l'évolution de l'indice éosinophilique et de kératinisation calculée avec les 3 colorations : le DIFF-QUICK, l'HARRIS SHORR complet et simplifié

Suivant nos résultats, les courbes de **l'indice cytologique** des 3 colorants se superposent montrant des indices de kératinisation et éosinophilique semblables, tout en tenant compte de la richesse en cellules du champ observé, de l'étalement et de la coloration.

De ce graph et le tableau, on constate que la coloration **Diff-quick** et l'**Harris Shorr** simplifié nous donne des résultats presque identique que le l'**Harris Shorr** complet, cependant pour le **Diff-quick** l'utilisateur doit avoir une bonne base concernant la morphologie cellulaire et pouvoir faire la différence entre les différents types cellulaires surtout les cellules superficiels anucléés,

II. Les résultats des données échographiques :

Pour chaque chienne les 2 ovaires ont pu être visualisés lors de chaque examen, même si parfois la visualisation de l'ovaire droit était difficile

A présent nous allons présenter les résultats échographiques du suivi effectué ; ce suivi est divisé en 3 périodes : préovulatoire, ovulatoire et post-ovulatoire

◆ La période préovulatoire :

En cette période les follicules grandissent de manière continue et l'ovaire augmente de taille, ceci est traduit par la présence de zones anéchogènes au niveau de l'ovaire avec persistance de la forme ovale de ce dernier

La taille maximale moyenne qu'on a pu observer pour les follicules préovulatoires est de 7 mm pour l'ovaire gauche et 6 mm pour l'ovaire droit tandis que le nombre des follicules observé est de 4,6 à 4,8 follicules en moyenne dans les 2 ovaires comme mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Tableau présentant le nombre de follicules sur chaque ovaire et la taille des follicules avant ovulation (en cm). les moyennes totales sont calculées sur les 9 chiennes

| les chiennes | Le nombre des follicules | | Taille des follicules avant ovulation | |
|-------------------|--------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| | Ovaire G | Ovaire D | Ovaire G | Ovaire D |
| POLA | 5 | 6 | 0,59 | 0,56 |
| ANY | 4 | / | 0,79 | / |
| RITTA | 6 | 5 | 0,75 | 0,54 |
| FABIA | 4 | 4 | 0,66 | 0,57 |
| CRISTINA | 5 | 3 | 0,54 | / |
| BRINDY | 3 | 5 | 0,66 | 0,72 |
| DORINE | 6 | 4 | 0,69 | 0,77 |
| ANITTA | 5 | 5 | 0,6 | 0,53 |
| CARMA | / | 3 | / | 0,6 |
| GAYA | 5 | 5 | 0,67 | 0,76 |
| La moyenne | 4,8 | 4,6 | 0,7 | 0,6 |

Lorsque la lutéinisation préovulatoire se met en place, donc quelques jours avant l'ovulation : on observe une paroi folliculaire plus échogène mesurant environ 1 mm

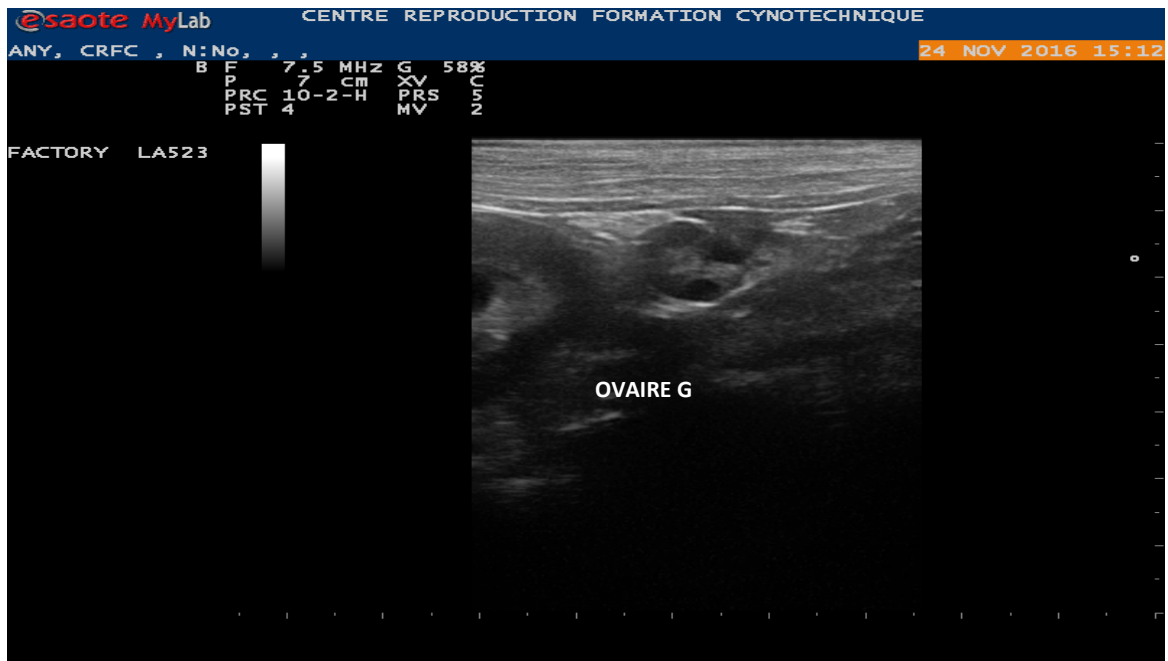


Figure 37: Image échographique personnelle de l’ovaire gauche d’Any avec presence de 3 follicules anechogenes et leurs paroi (® CRFC/GN de Bâinem)

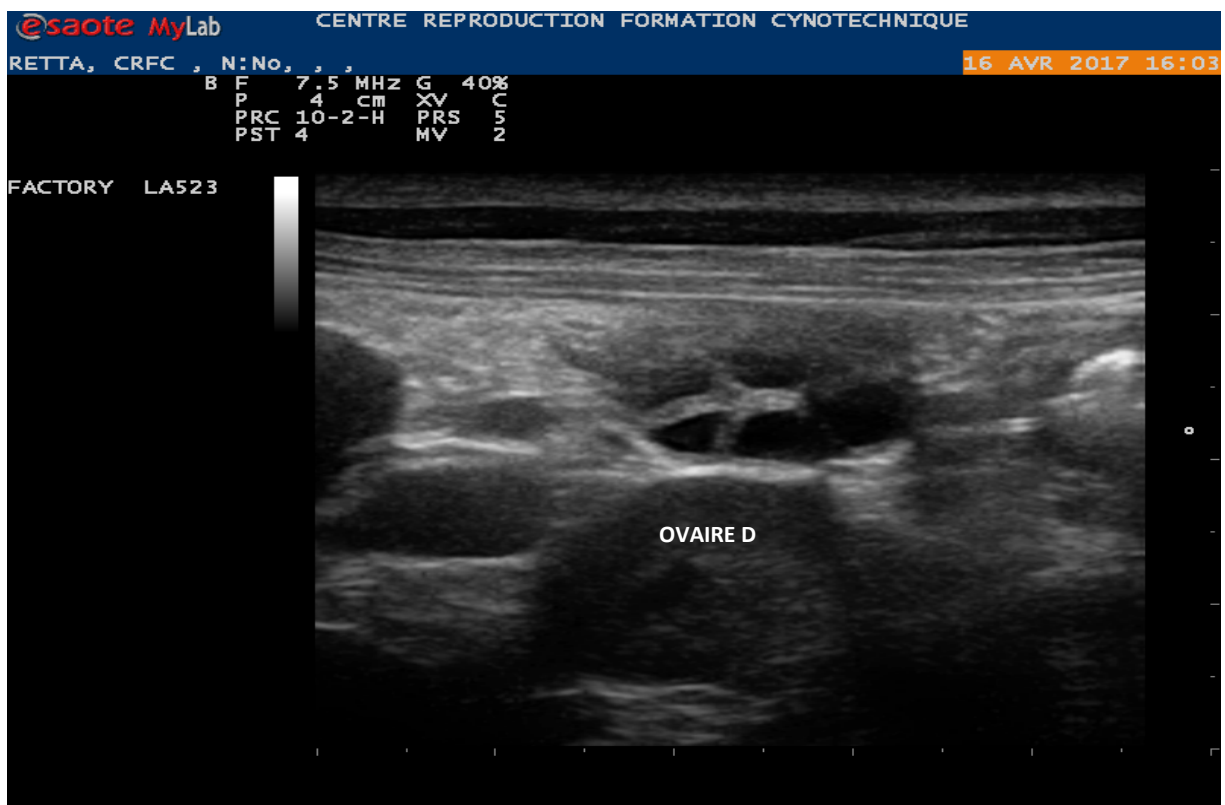


Figure 38 : Image échographique personnelle de l’ovaire droit de RETTA avec des follicules en aspect de nid d’abeille (® CRFC/GN de Bâinem)

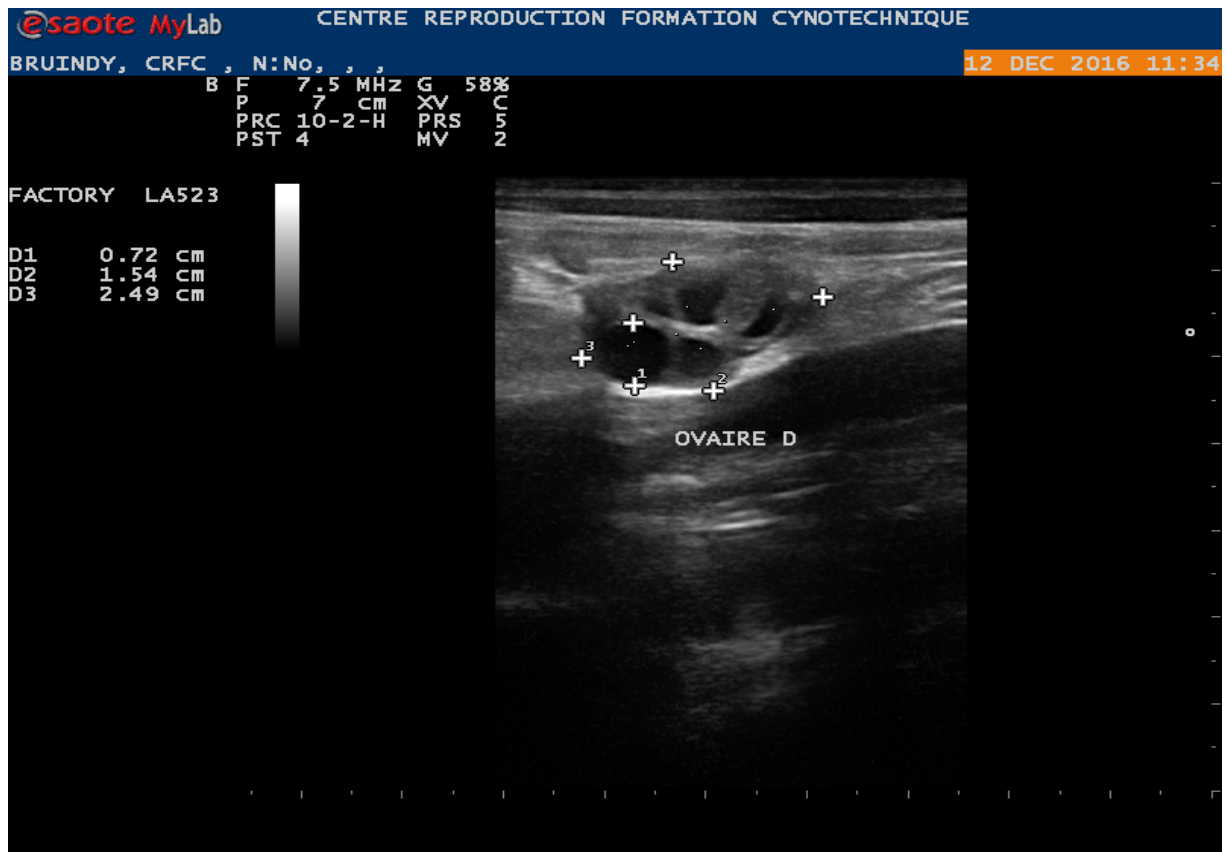


Figure 39 : Image échographique personnelle de l’ovaire droit de BRINDY un jour avant l’ovulation, les follicules ont une forme irrégulière (® CRFC/GN de Bâinem)



La période ovulatoire :

Lors de l’ovulation, les follicules qui étaient anéchogènes se transforment en des structures uniformes relativement échogènes, cet aspect appelé collapsus folliculaire caractéristique de l’ovulation qu’on a pu observer sur certaines de nos chienne, sur qui on a pu mettre en évidence les structures ovariennes grâce au doppler et qui est représenté par les images échographiques suivantes :

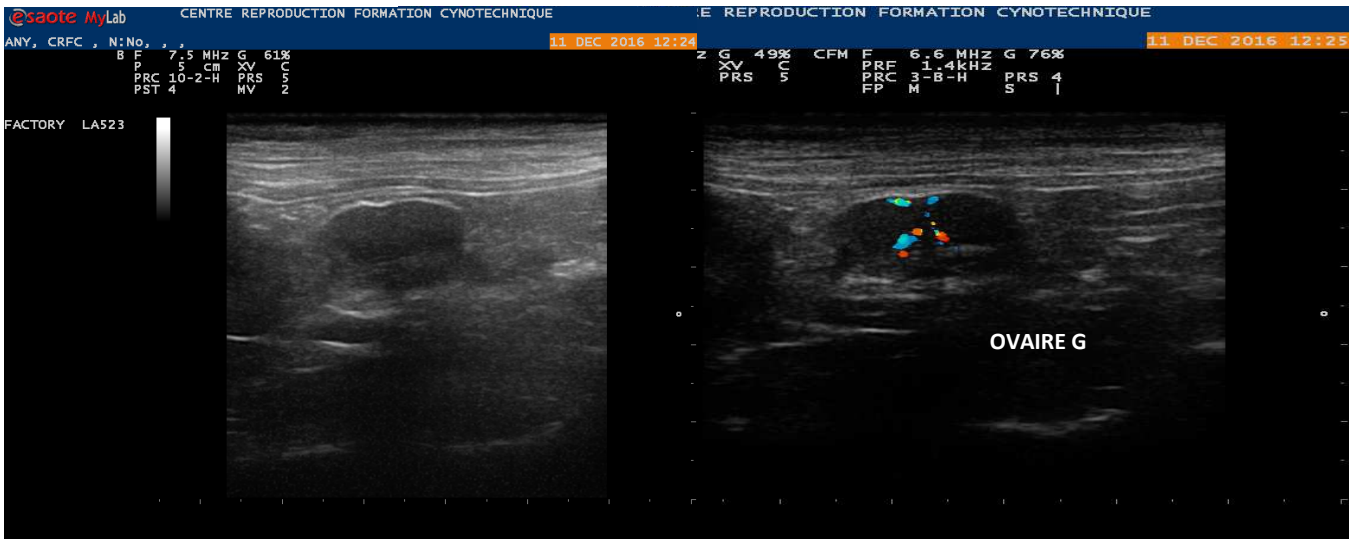


Figure 40 : Images échographiques personnelles du collapsus complet de l'ovaire gauche d'ANY, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes (® CRFC/GN de Bâiném)

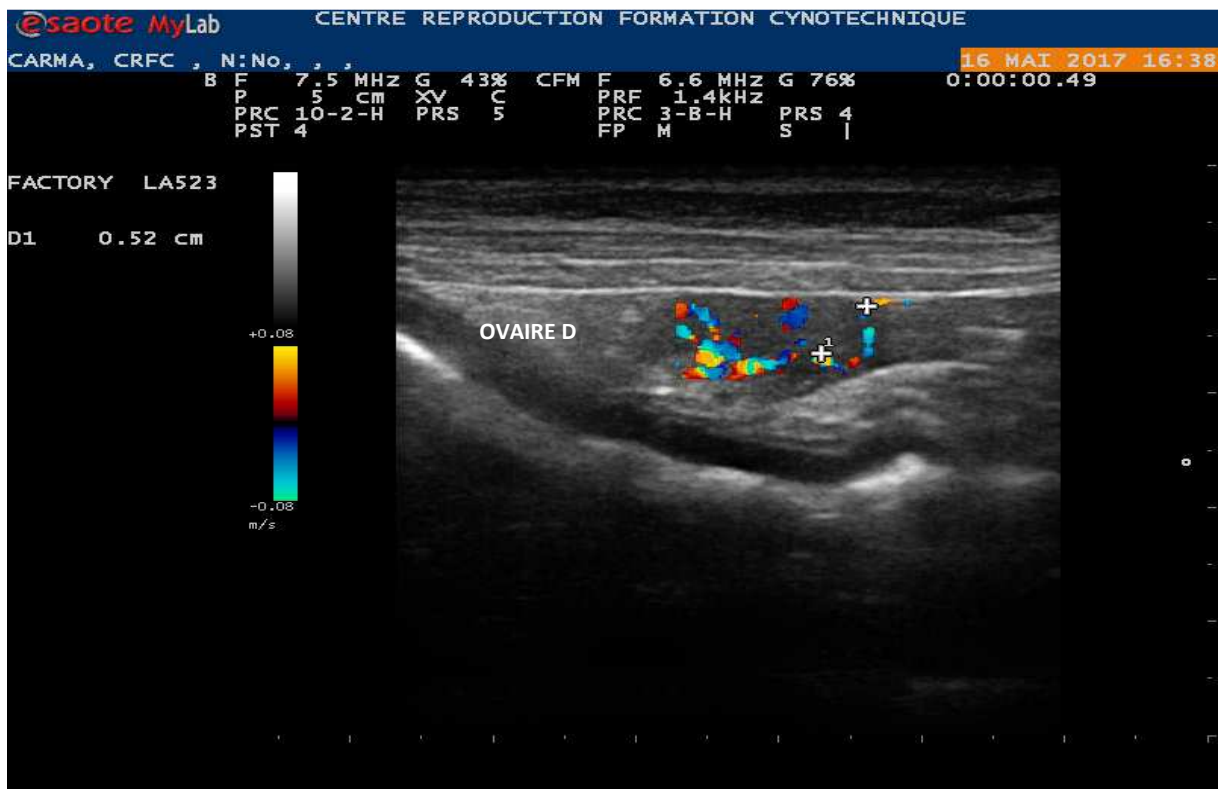


Figure 41 : Image échographique personnelle du collapsus complet de l'ovaire droit de CARMA, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes (® CRFC/GN de Bâiném)

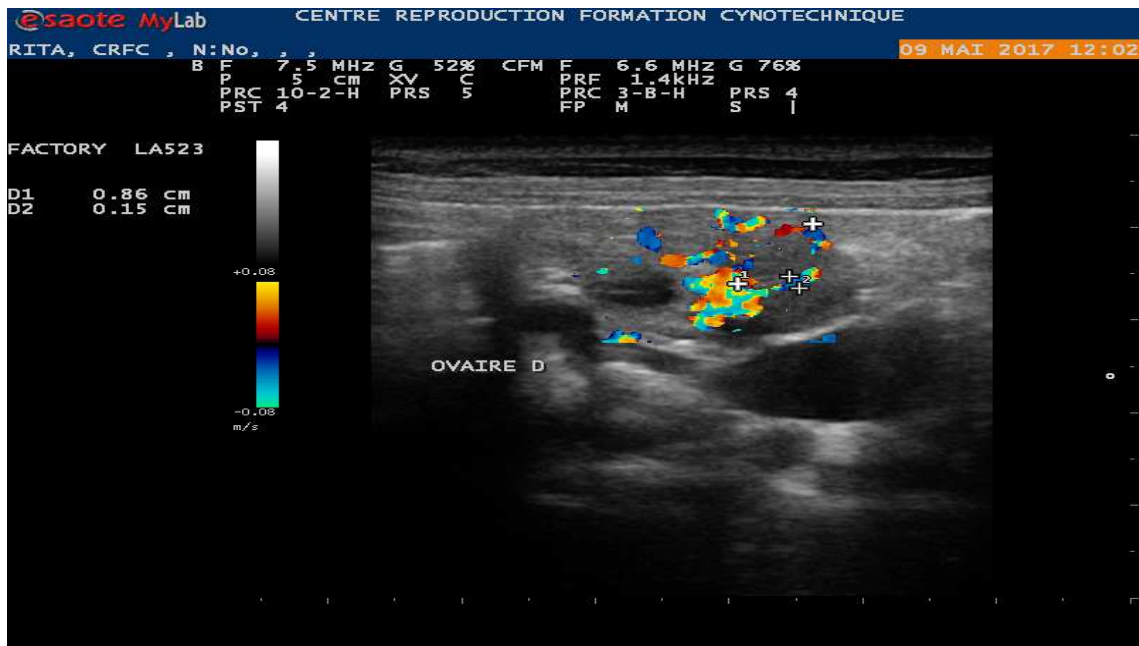


Figure 42 : Image échographique personnelle du collapsus partiel de l’ovaire droit de RETTA, le doppler nous a permis de détecter la présence des structures ovariennes sur l’ovaire (® CRFC/GN de Baïnem)

On a aussi pu observer du liquide séparant l’ovaire de sa bourse le jour de l’ovulation chez la chienne GAYA

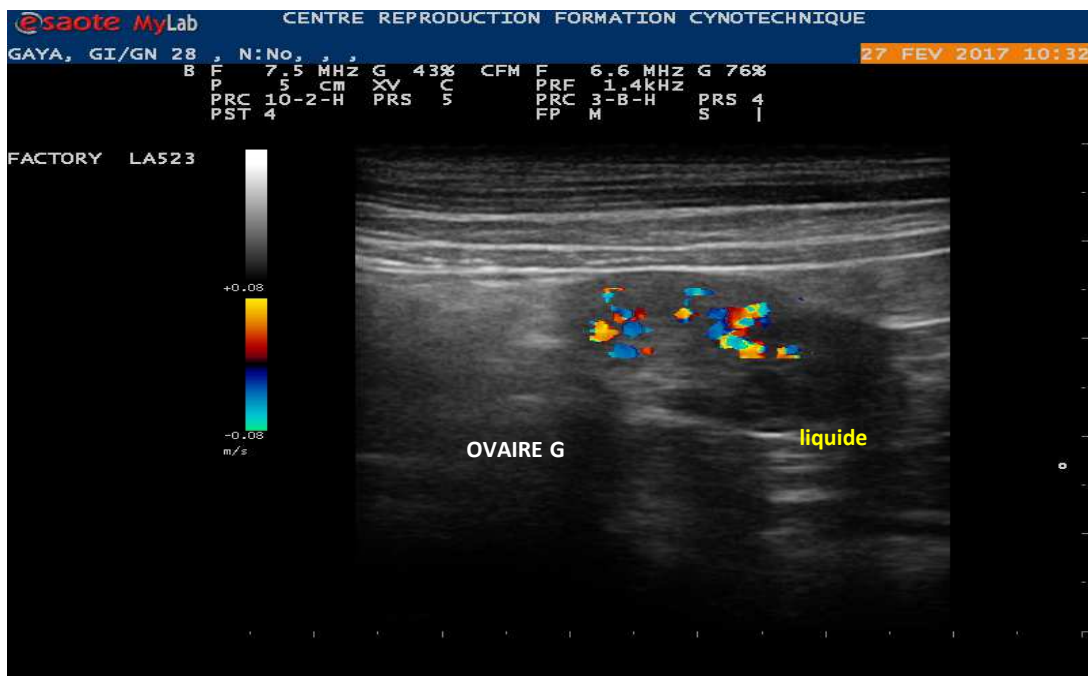


Figure 43 : Image échographique personnelle du Collapsus partiel de l’ovaire gauche de GAYA avec présence du liquide (® CRFC/GN de Baïnem)

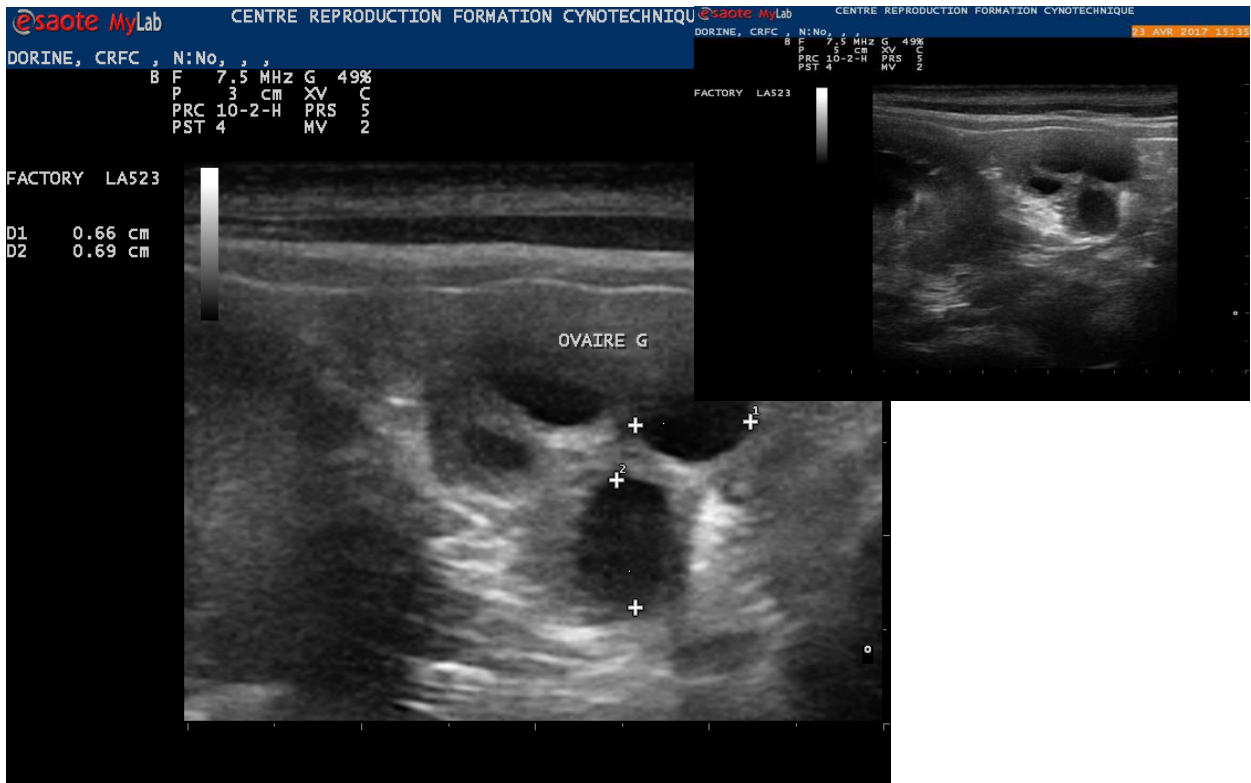


Figure 46 : Image échographique personnelle de l’ovaire gauche de DORINE après ovulation, l’ovaire est rapproché du rein gauche avec un aspect bosselé de l’ovaire, la taille des corps jaunes est indiquée à gauche (® CRFC/GN de Baïnem)

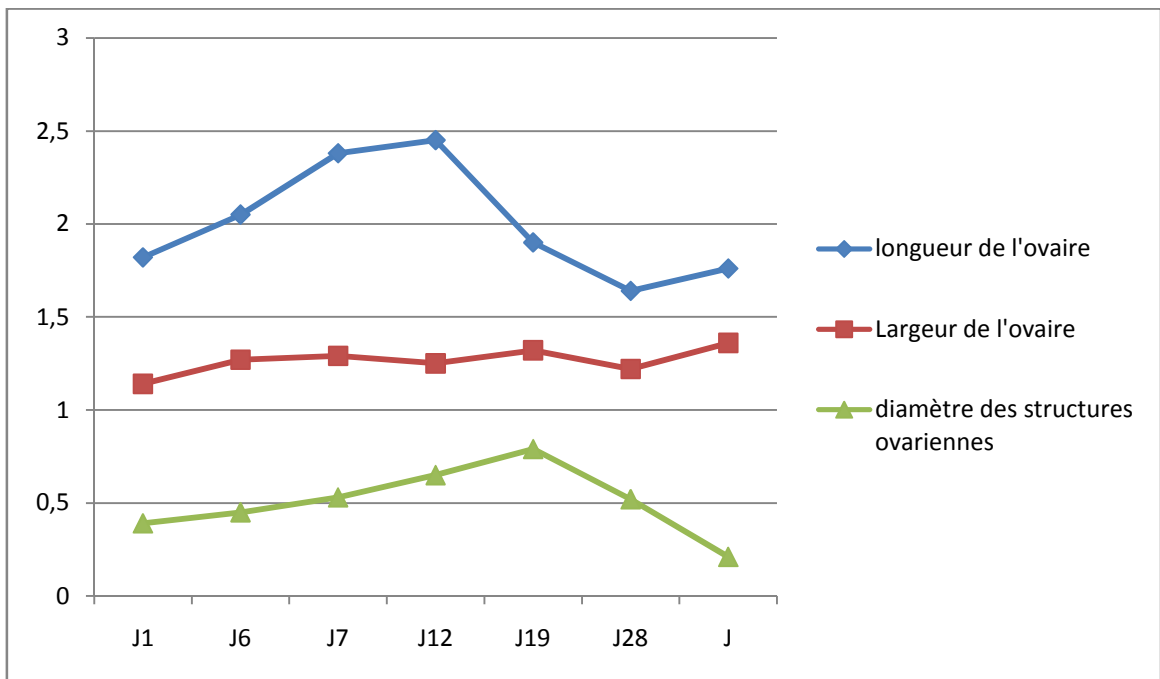


Figure 47 : l’évolution des diamètres de l’ovaire et des structures ovariennes durant le cycle sexuel de Cristina

En dehors de ces périodes on a pu visualiser l'ovaire lors de l'anœstrus



Figure 48 : Image échographique personnelle de l'ovaire droit d'ANY lors de l'anœstrus, a noté l'aspect circulaire et la petite taille de l'ovaire (® CRFC/GN de Bâiném)

I. Discussion des résultats cytologiques :

☀ Etant donné que l'examen cytologique est la première étape du suivi des chaleurs, plusieurs études ont été menées par différents praticiens.

selon **Cowell** et **Tyler** la coloration **Diff quick**® est une coloration monochrome dont nombreux praticiens possèdent les réactifs, elle est surtout rapide et facile à utiliser et permet une très bonne visualisation des polynucléaires neutrophiles et des hématies (**cowell et al., 2006**). Cependant, selon **Johnston**, **Kustritz** et **Fontaine** les cellules vaginales, quel que soit leur degré de kératinisation apparaissent uniformément bleu-violet et donc l'interprétation se fera uniquement sur l'appréciation de la morphologie cellulaire (**LUC, 2005**), (**Fontaine et al., MARS 2010; Johnston et al., (2001)**)

D'autres études élaborées par **Fontaine** ont pu mettre en évidence des colorations dites différentielles. Elles se basent sur le fait que la kératinisation progressive des cellules va de paire avec une acidophilie de plus en plus marquée. La plus utilisée est sans nul doute la coloration d'**Harris Shorr**, qui permet ainsi de colorer les cellules non kératinisées en bleu (ces cellules sont dites basophiles) et les cellules kératinisées en rose (ces cellules sont dites acidophiles). Afin de raccourcir le temps de la coloration d'**Harris Shorr**; un protocole a été mis en œuvre par les laboratoires RAL et qui a été vérifié par plusieurs praticiens dont **Alain Fontbonne**, **Anne Laure** et **Marion Dutey**, ce protocole est vraiment facile et un peu rapide que l'ancien avec des résultats identique mais de coloration claire, le seul inconvénient est que l'**Harris Shorr** simplifié dissimule avec le temps lors de conservation des lames, même problème rencontré lors de notre étude ainsi qu'avec (**Anne-Laure and DUTEY, 2015**) et (**Fontbonne et al., June 22-25, 2016**). D'après **Fontaine**, ce type de coloration -trichrome- permet d'ajouter un élément d'appréciation qui est l'**indice éosinophilique** (proportion de cellules acidophiles sur le frottis). Cet indice permet notamment de se repérer dans les différentes phases de l'œstrus. (**Fontaine et al., MARS 2010**) . Cependant, lors de notre étude expérimentale on a pu constater un **indice de kératinisation** presque identique sur la coloration de **Diff quick** en calculant le nombre des cellules superficielles anucléés uniquement, confirmé par les résultats mentionnés précédemment.

II. Discussion des résultats échographiques :

Dans notre étude toutes les chiennes ont été examinées en décubitus latéral pareil que les auteurs (**NAUTRUP and TOBIAS, 2005**) et (**FRESNE, 13 juillet 2010**) et contrairement à (**Vermeulen, April 2009**) et (**Lévy and Fontbonne, 2007**) qui ont établi l'examen sur des chiennes debout, nos chiennes n'avaient pas besoin ni de coussin plat comme (**FRESNE, 13 juillet 2010**) et (**Barbosa et al., 2013**) ni d'un coussin de contention type Doggy-relax comme (**Fontbonne, 2008**) ni de sédation

Les observations faites durant notre étude sont semblables aux études précédentes ; nous avons pu mettre en évidence chacune des périodes : préovulatoire, ovulatoire et post-ovulatoire. la taille maximale des follicules préovulatoires que nous avons observé est en moyenne de 6 à 7 mm sur nos chiennes de race Berger Belges Malinois, les mêmes résultats observés mais sur des chiennes de race Beagles pour les auteurs (**HASE et al., 2000**) et (**Hayer et al., 1993**) (de 5,8 à 7,5mm), des résultats légèrement supérieur pour (**EKER and SALMANOGLU, 2006**)(4à 6mm) et (**Fontbonne, 2008**) qui ont trouvé un résultat de (5,2 à 5,3 mm), nettement supérieur à (**FRESNE, 13 juillet 2010**) qui a observé une taille de 4,8 à 5,3mm sur des Chihuahua et sur des Cavalier King Charles, et légèrement inférieur à (7 à 10mm) observé par (**England and Concannon, 2002**) aussi sur des chiennes Beagles .

Concernant le nombre des follicules on a pu constater un nombre en moyenne allant de 4,6 à 4,8 follicules par ovaire ce qui est aussi observé par (**Fontbonne, 2008**)(entre 4 et 5 follicules en moyenne par ovaire) et supérieur a celui observé par (**Hayer et al., 1993**)(3,2 et 3,7) et (**FRESNE, 13 juillet 2010**)(2,9 à 3)

Contrairement à (**Fontbonne, 2008**) et (**FRESNE, 13 juillet 2010**) et pour toutes les chiennes de notre étude les 2 ovaires étaient fonctionnelles et aucune chienne ne présentait d'anomalie

Certains auteurs et afin de détecter le moment d'ovulation recommandent de faire plusieurs échographies par jours (**Malandain and Fontbonne, 2006**) et (**HASE et al., 2000**), d'autres ne font qu'une seule échographie quotidienne avec de bons résultats (**Fontbonne, 2008**) et (**DUMASY, 2001**). Pour notre étude et contrairement a ces auteurs, nous avons réussi a avoir des résultats satisfaisants avec des échographies réalisées chaque 2 jours, sauf pour les chiennes qui ont ovulés lors du weekend ou le suivie n'était pas possible, même problème rencontré pour (**FRESNE, 13 juillet 2010**)

Lors de l'ovulation, nous avons pu visualiser comme **(Fontbonne, 2008) et (Wallace et al., 1992)** un collapsus folliculaire complet au niveau de l'un des ovaires sur certaines chiennes et un collapsus partiel sur d'autres **(Barbosa et al., 2013)**, toutefois nous n'avons pas pu voir ce phénomène sur les chiennes qui ont ovulé pendant le weekend. On a aussi pu observer le liquide qui sépare l'ovaire de sa bourse tout comme **(Lévy and Fontbonne, 2007)**

Quelques jours suivant l'ovulation, nous avons observées des cavités anéchogènes qui grossissent en un laps de temps **(Nyland et al., 2002)** ; ce sont les corps jaunes cavitaires et qui ont un aspect semblable à celui des follicules préovulatoires observés aussi par **(Malandain and Fontbonne, 2006), (England and Yeager, 1993), (Wallace et al., 1992)**. Pour les chiennes ayant ovulées le weekend, nous n'avons pas pu distinguer entre les 2 structures suite a cet aspect, et c'est a cause de cela que **(DUMASY, 2001; Fontbonne, 2008; HASE et al., 2000)** préconisent de faire une échographie quotidienne ou plus

L'utilisation de l'échographe intervient lors des valeurs de progestérone comprise entre 2 et 5 ng/ml, cependant si on procède a un examen échographique tardif (valeurs de P4 de 5 à 10 ng/ml) on peut confondre l'image échographique d'un follicule avec un corps jaune cavitaire **(FRESNE, 13 juillet 2010)**

Conclusion

Dans notre étude expérimentale on a pu démontrer qu'il est possible d'optimiser l'utilisation des frottis vaginaux dans le cadre d'un suivi de chaleur correctement réalisé. La détection du début de Proœstrus est primordiale ; et on a constaté lors de notre travail que les résultats fournis par le **Diff quick (kit RAL 555)** sont semblables à ceux des colorations trichromes telles que celles que nous avons utilisé **l'Harris Shorr complet et simplifié**. Le praticien peut donc tout à fait lorsque l'indice de kératinisation de la cytologie vaginale est situé entre 40% et 60%, ne pas pratiquer temporairement les mesures de progestérone sérique en suivant la coloration qui lui convient le plus.

Sachant que la progestéronémie de la chienne est inférieure à 2ng/ml, la visite suivante pourra être envisagée 3 jours plus tard. Tant que les frottis vaginaux répondent à notre critère (indice éosinophile supérieur à 40% et inférieur à 60%), la progestérone ne sera pas dosée.

A partir du moment où le taux de cellules complètement kératinisées sera supérieur à 60%, la consultation de suivi de chaleurs sera alors complétée par le dosage de Progestéronémie

Ceci en ce qui concerne les méthodes indirectes de la détermination de l'ovulation

La méthode qui nous a permis le diagnostic direct de l'ovulation n'est autre que l'échographie, cette dernière nous a donné de bons résultats concernant l'évolution des modifications au niveau des ovaires et des structures ovariennes qui nous ont permis la détermination précise du moment de l'ovulation mais qui nécessite un suivi échographique journaliers. Cependant, un examen échographique chaque 2 jours a aussi permis un bon suivi d'ovulation

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Akers, R.M., Denbow, D.M.**, 2013. Overview of the female reproductive tract. In, Anatomy and Physiology of Domestic Animals. John Wiley & Sons, USA, p. p558 et p563.
- **Anne-Laure, DUTEY, M.**, 2015. LA COLORATION DES FROTTIS VAGINAUX CHEZ LA CHIENNE : ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ D'UN NOUVEAU PROTOCOLE DE HARRIS SHORR SIMPLIFIÉ. In, LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL, Vol. DOCTORAT VÉTÉRINAIRE. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT, City, p. 105.
- **Aspinall, V., Capello, M.**, 2015. Reproductive system. In, Introduction To Veterinary Anatomy And Physiology TEXTBOOK, p. 178.
- **Aughey, E., Frye, F.L.**, 2001. Development of the follicles & Vagina. In, Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates. Manson Publishing, London, pp. 184, 192.
- **BALZER, A., LOTH, A.**, 2012. Connaissances générales relatives à la reproduction du chien et de la chienne. In, Guide de la reproduction du chien et de la chienne: de la saillie à la vente des chiots, pp. 15-19.
- **Banks, W.J.**, 1993. FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM. In, Applied Veterinary Histology. MOSBY, pp. 450,456.
- **Barbosa, C.C., Souza, M.B., Scalercio, S.R.R.A., Silva, T.F.P., Domingues, S.F.S., Silva, L.D.M.**, 2013. Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. Pesq. Vet. Bras, 1144-1150.
- **BARON, F.**, 2006. ETUDE DE LA PERIODE PRE-OVULATOIRE CHEZ LA CHIENNE BERGER ALLEMAND. In, ÉCOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT. LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL, City, p. 77.
- **Barone, R.**, 2001. Appareil génital de la Chienne et de la Chatte. In, ANATOMIE COMPAREE des mammifères domestiques, Vol. 04 Splonchnologie II, , PARIS, pp. 397-407.
- **Behrend, E.N.**, 2015. BIOSYNTHESIS OF GROWTH HORMONE AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1. In: Feldman, E.C., Nelson, R.W., Reusch, C.E., Scott-Moncrieff, J.C.R. (Eds.), Canine & Feline ENDOCRINOLOGY, p. 39.
- **Blendinger, K.**, 2007. Anoestrus & estrogens. In, Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch, City, pp. 73-74.
- **Bragulla, H., König, H.E.**, may 2014. Mammary Gland. In: Schattauer (Ed.), Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas, p. 595.

- **Budras, K.-D., McCarthy, P.H., Horowitz, A., Berg, R.**, September, 2007. (Female Genital Organs). In, Anatomy of the Dog, Germany, 5eme edition Schlutersche pp. 66-67.
- **CARUSO, J.-L.**, 2005. ETUDE CLINIQUE DU PROLAPSUS VAGINAL CHEZ LA CHIENNE. In, ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT. LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL, City, p. 80.
- **Catherine, M.B.**, 2008. LA DUREE DE GESTATION REELLE CHEZ LA CHIENNE ET LES FACTEURS L'INFLUENÇANT : ETUDE RETROSPECTIVE EFFECTUEE AU CENTRE D'ETUDE EN REPRODUCTION DES CARNIVORES ENTRE 2001 ET 2006. In, LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL. ÉCOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT, City, p. 129.
- **Christoph, H.-J., Arbeiter, K.**, 1976. Clinique des maladies du chien. In: chienne, C.s.d.l. (Ed.), Clinique des maladies du chien, City, pp. 528-529.
- **COLE, H.H., CUPPS, P.T.**, 1969. progestogens. In, REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS. A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, London, p. 101.
- **Concannon, P.**, 2010. Reproductive cycles of the domestic bitch. Animal Reproduction Science, 11.
- **CONCANNON, P.W., BUTTLER, W.R., HANSEL, W., KNIGHT, P.J., HAMILTON, J.M.**, 1978. Parturition and lactation in the bitch : serum progesterone, cortisol and prolactin. BIOLOGY OF REPRODUCTION 19 1113-1118.
- **Corneloup, D.**, 2011. Étude expérimentale du suivi de chaleurs chez la chienne : la détection du jour d'ovulation par le dosage semi-quantitatif de LH. In, UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I, City, p. 98.
- **cowell, R.L., Tyler, R.D., Meinkoth, J.H.**, 2006. Guide Pratique de Cytologie et Hématologie du Chien et du Chat, New York, USA.
- **Cunningham, J.G., Klein, B.G.**, 2007. OVARIAN CYCLE. In, TEXTBOOK OF VETERINARY PHYSIOLOGY, p. 479.
- **Davidson, P.**, Autumn. BREEDING MANAGEMENT OF THE BITCH.
- **Dorn, C.R., Orlandi, C., Wulf, R., R, W.**, 2000. Female Genital Organs & Stages of the Estrous Cycle. In, Canine Theriogenology Conference City, pp. p7 et p11-13.
- **Dorn, C.R., Orlandi, C., Wulf, R., R, W.**, 2000 Stages of the Estrous Cycle. In, Canine Theriogenology Conference City.

- **Drion, P., Beckers, J., J.Derivaux, Ectors, F.,** Août 2003. <<Physiologie de la Reproduction Tome I,II et III >>. In, Liège, Belgique. Faculté de Médecine Vétérinaire. IIIe candidature
- **DUMASY, M.,** 2001. Analyse in vivo de la fécondation dans l'espèce canine : dosages hormonaux, suivi échographique de l'ovulation et immunocytochimie sur ovocytes. In, LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL, Vol. DOCTORAT VETERINAIRE. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT, City, p. 127.
- **DYCE, K.M., SACK, W.O., C.J.G.WENSING,** 2010. THE FEMALE REPRODUCTIVE ORGANS. In, TEXTBOOK OF VETERINARY ANATOMY p. 459.
- **EKER, K., SALMANOGLU, M.R.,** 2006. Ultrasonographic Monitoring of Follicular Development, Ovulation and Corpora lutea Formation in a Bitch. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 30, 589-592.
- **England, G., Concannon, P.W.,** 2002. Determination of the Optimal Breeding Time in the Bitch: Basic Considerations. In: Recent Advances in Small Animal Reproduction,, pp. 3-9.
- **England, G., Yeager, A.,** 1993. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy. Journal of Reproduction and Fertility Supplement : 47, 107-117.
- **ENTE, A., OTTAVIANI, J., TEXIER, R.,** 2001. LA MATURATION FOLLICULAIRE ET OVOCYTAIRE CHEZ LA CHIENNE. In, City, p. 17.
- **FAVIER, F.,** 2001. AVORTEMENTS ET MORTALITE NEONATALE EN ELEVAGE CANIN : APPROCHE PRATIQUE DU VETERINAIRE. In, ECOLE VETERINAIRE D'ALFORT. LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL, City, p. 126.
- **FELDMAN, E., NELSON, R.,** 2004. Section Seven: CANINE FEMALE REPRODUCTION. In, Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, p. 3069.
- **Fletcher, T.F., Clarkson, C.E.,** 2010. General anatomy & Carnivore anatomy lecture notes. In, Veterinary Gross Anatomy City, pp. 35-36.
- **Fontaine, E., Mira, F., Vanniera, F., Fontbonne, A.,** MARS 2010. Utilisation du laboratoire en gynécologie et andrologie canines. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES NORMES BIOLOGIQUES EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE.
- **Fontbonne, A.,** 2008. OVULATION, MATURATION OVOCYTAIRE ET FECONDATION IN VIVO CHEZ LA CHIENNE. In, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de

l'Environnement (Agro Paris Tech), Vol. Docteur. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, City, p. 116.

- **Fontbonne, A., Dutey, A.-L., Maenhoudt, C., Audierne, C.**, June 22-25, 2016. Validation of fast simplified Harris-Schorr staining technique for vaginal smears in the bitch. In: Proceedings of the 8th International Symposium on Canine and Feline Reproduction ISCFR, PARIS, FRANCE.
- **FONTBONNE, A., GRELLET, A., FONTAINE, E.**, 2011. LA FEMELLE In, FAIRE REPRODUIRE SON CHIEN LES CLES D'UNE BONNE PRATIQUE pp. 3-15.
- **FRESNE, J.L.**, 13 juillet 2010. Echographie Ovarienne Chez La Chienne : Interet Dans Le Diagnostic De L'ovulation. In, la Faculté de Médecine de Nantes, Vol. DOCTEUR VETERINAIRE. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE NANTES, City, p. 129.
- **GAYRARD, V.**, Septembre 2007. le CYCLE ŒSTRAL & le Rôle physiologique et sécrétion pulsatile du GnRH. In, PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DES MAMMIFERES, City, p. p6 et p27 et p60.
- **GIER, J.D.**, 2011. The ovaries. In, Reproductive Endocrinology Of The Dog : Effect of medical and surgical intervention. Utrecht University, p. 23.
- **Grandjean, D., Pierson, P., Rivière, S., Grellet, A., Boogarts, C., Colliard, L., Thorel, J., Overall, K., Zabel, U.**, 2008. Conduite à la reproduction en élevage. In, Guide Pratique d'Élevage Canin, pp. 220-221.
- **Greer, M.L.**, 2014. The "Normal" estrous cycle. In, CANINE Reproduction and Neonatology, p. 218.
- **HASE, M., HORI, T., KAWAKAMI, E., TSUTSUI, T.**, 2000. Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. J Vet Med Sci, 243-248.
- **Hayer, P., Günzel-Apel, A., Lüerssen, D., Hoppen, H.**, 1993. Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. Journal of Reproduction and Fertility Supplement : 47, 93-100.
- **J.DERIVAUX, F.ECTORS**, 1980. cycle oestral dans les diverses especes animales. In, PHYSIOPATHOLOGIE DE LA GESTATION ET OBSTETRIQUE VETERINAIRE, p. 10.
- **Jöchle, W., Larnondt, D.R.**, 1980. Female animals. In, Control of Reproductive Functions in Domestic Animals(Current topics in veterinary medicine and animal science), Vol. 7, p. 55.

- **Johnston, S.D., Kustritz, M.V.R., Olson, P.S.,** (2001). THE BITCH : The Canine Estrous Cycle In, Canine and Feline Theriogenology, Philadelphia, WB SAUNDERS, pp. p5-17et p19-28 et p33 et p592.
- **KAHN, W.,** 1994. Examen échographique du chien et du chat. In, ATLAS DE DIAGNOSTICS ECHOGRAPHIQUES City, pp. p226-227.
- **König, H.E., Liebich, H.-G.,** may 2014. Female genital organs (organa genitalia feminina). In: Schattauer (Ed.), Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas, p. 407.
- **Kustritz, M.R.,** 2003. Breeding Management in the Bitch and Queen & Technique for Obtaining Vaginal Cytology Specimens. In, The Practical Veterinarian, p. p43 et p45.
- **Kustritz, M.V.R.,** 2010. ANATOMY. In, Clinical Canine and Feline Reproduction : EVIDENCE-BASED ANSWERS, p. 5.
- **Lahunta, A.d., Evans, H.,** 2013. MAMMAE. In, Miller's ANATOMY of the DOG, p. 398.
- **Larry R Engelking,** 2012. Fertilization, the CL and Placenta. In, METABOLIC AND ENDOCRINE PHYSIOLOGY. Jackson, Wyoming, p. 127.
- **Lesegno, C.V.D.,** 2008. La maturation de l'ovocyte canin in vivo et in vitro. In, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, City, p. 126.
- **Lévy, X., Fontbonne, A.,** 2007. Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. In, Vol. 31, City, pp. 128-134,.
- **LUC, A.,** 2005. Interet de l'Interpretation des frottis vaginaux chez la chienne en debut de proestrus lors du suivi de chaleurs: Etude expérimentale. In, ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT, Vol. DOCTORAT VETERINAIRE. LA FACULTE DE MÉDECINE DE CRETEIL, City, p. 160.
- **Maddison, J., Page, S.W., Church, D.B.,** 2008. Female physiology. In, Small Animal Clinical Pharmacology. Elsevier, pp. 528, 536.
- **Malandain, E., Fontbonne, A.,** 2006. Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen. WALTHAM Focus Vol 16 No 2, 22-29.
- **MIMOUNI, P., LEVY, X.,** 2012. Frottis vaginaux. In: neuf, S.d.c.q.d. (Ed.). www.vetreproduction.com, City.
- **NAUTRUP, C.P., TOBIAS, R.,** 2005. OVAIRES. In, Guide pratique d'échographie canine et féline, pp. 248-257.

- **Noakes, D.E., Parkinson, T.J., England, G.C.W.**, Jun 2001. The oestrus cycle and its phases & Natural regulation of cyclical activity. In, Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics, pp. p33 et p35-38.
- **Norris, D.O.**, 2007. Synonyms, Abbreviations, Cellular Source, Targets, and Actions for Mammalian Tropic Hormones. In, Vertebrate Endocrinology, p. 108.
- **Nyland, T.G., Mattoon, J.S., Herrgesell, E.J., Wisner, E.R.**, 2002. NORMAL OVARY. In, SMALL ANIMAL DIAGNOSTIC ULTRASOUND, pp. 232-233.
- **Papich, M.G., Riviere, J.E.**, 2009. ENDOCRINE PHARMACOLOGY & HORMONES AFFECTING REPRODUCTION. In, Veterinary Pharmacology and Therapeutics, pp. p718 et p722-727.
- **PATON, D.N.**, 1908. REPRODUCTION. In, ESSENTIALS OF PHYSIOLOGY FOR VETERINARY STUDENTS. WILLIAM GREEN & SONS, EDINBURGH AND LONDON, p. 434.
- **Penninck, D., d'Anjou, M.-A.**, 2008. Examination Technique In, Atlas of Small Animal Ultrasonography. Blackwell publishing, p. 397.
- **PIQUEREL, V.**, L'intérêt de l'échographie ovarienne dans le suivi des chaleurs.
- **Prelaud, P., Fornel, P.D., D.Rosenberg**, 2003. Tests hormonaux chez le chien et le chat In, Tests hormonaux chez le chien et le chat, pp. 150-151.
- **Raskin, R.E., Meyer, D.J.**, 2010. Special Collection Techniques. In, CANINE AND FELINE CYTOLOGY: A COLOR ATLAS AND INTERPRETATION, pp. 288-289.
- **Reece, W.O.**, 2005. Female Reproduction. In: Troy, D.B. (Ed.), Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals, United States of America pp. p403-409.
- **Reece, W.O.**, 2015 uterines tubes In, Dukes' Physiology of Domestic Animals, p. 674.
- **Romagnoli, S.**, 2006. CONTROL OF REPRODUCTION IN DOGS AND CATS: USE AND MISUSE OF HORMONES. In: proceedings of the world congress WSAVA, p. 703.
- **Rossmannith, W.G., Kleine, B.**, 2016. Progesterone In, Hormones and the Endocrine System. Springer International Publishing Switzerland, City, p. 221.
- **Sontas, H.B., Dokuzeylu, B., Turna, O., Ekici, H.**, 2009. Estrogen-induced myelotoxicity in dogs: A review. The Canadian Veterinary Journal VOL 50, 5.
- **TAVERNE, M.A.M., WILLEMSE, A.H.**, 1989. ACCURACY OF PREGNANCY DIAGNOSIS IN DOGS BY MEANS OF LINEAR-ARRAY ULTRASOUND SCANNING. In, DIAGNOSTIC ULTRASOUND AND ANIMAL REPRODUCTION, Vol. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science, Volume 51, Department of Herd Health and Reproduction, Veterinary Faculty, p. 106.

- **Thibault, C., Levasseur, M.-C.**, 2001. Folliculogenese. In, LA REPRODUCTION CHEZ LES MAMMIFERES ET L'HOMME, PARIS, p. 316.
- **Vaden, S.L., Knoll, J.S., Francis W.K. Smith, J., Tilley, L.P.**, 2009. Abdominal Radiography & Luteinizing Hormone In, Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Laboratory Tests and Diagnostic Procedures: Canine & Feline, p. p2 et p422
- **Vermeulen, M.A.E.**, April 2009. Ovarian Color-Doppler Ultrasonography to Predict Ovulation in the Bitch. Research Project Veterinary Medicine.
- **Wallace, S., Mahaffey, M., Miller, D., Thompson, F., Chakraborty, P.**, 1992. Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. American Journal of Veterinary Research 53: (2), 209-215.
- **Willard, M.D., Tvedten, H.**, 2012. Canine Breeding and Whelping Management. In, Small Animal : CLINICAL DIAGNOSIS by LABORATORY METHODS, pp. 296-297.