



HAL
open science

Le frottis vaginal chez la chatte : étude de l'impact du cycle sexuel, de la gestation et de la stérilisation

Mathilde Agbalé

► To cite this version:

Mathilde Agbalé. Le frottis vaginal chez la chatte : étude de l'impact du cycle sexuel, de la gestation et de la stérilisation. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03970824

HAL Id: dumas-03970824

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03970824v1>

Submitted on 2 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2022

LE FROTTIS VAGINAL CHEZ LA CHATTE : ÉTUDE DE L'IMPACT DU CYCLE SEXUEL, DE LA GESTATION ET DE LA STÉRILISATION

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 26 juillet 2022

par

Mathilde Léa Sandra AGBALÉ

sous la direction de

Alain FONTBONNE

JURY

Présidente du jury :	Mme Christelle MAUREY-GUÉNEC	Maître de Conférences à l'EnvA, HDR
Directeur de thèse :	M. Alain FONTBONNE	Professeur à l'EnvA
Examineur 1 :	M. Pierre DESHUIILLERS	Maître de Conférences à l'EnvA
Membre invité :	Mme Juliette ROOS-PICHENOT	Docteur Vétérinaire

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version du 8 février 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Maître de conférences HDR	DPASP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loic	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Fédérighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneq	Christelle	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Perrot	Sébastien	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Benckekroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Constant	Fabienne	Maître de conférences	DPASP
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
Mme	Decambon	Adeline	Maître de conférences	DEPEC
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mespouilhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandère	Maître de conférences	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP

Remerciements

À la Présidente du Jury de cette thèse, Mme Christelle Maurey-Guénec, Maître de Conférences à l'EnvA, HDR,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse,
Hommage respectueux.

À M. Alain Fontbonne, Professeur à l'EnvA,

Pour avoir accepté de diriger cette étude, pour ses précieux conseils et le temps consacré à la correction de cette thèse,
Sincères remerciements.

À M. Pierre Deshuillers, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour l'attention portée à cette thèse et ses précieux conseils,
Sincères remerciements.

À Mme Juliette Roos-Pichenot, Docteur Vétérinaire, Dipl. ECAR,

Pour m'avoir fait confiance dans la réalisation de cette étude, pour sa disponibilité et son aide dans la partie expérimentale, pour le temps consacré à la correction de cette thèse,
Sincères remerciements.

À Mme Zuzanna Niewiadomska, Docteur Vétérinaire, Dipl. ECAR,

Pour l'attention portée à cette thèse et son aide dans la partie expérimentale,
Sincères remerciements.

À Mme Nathalie Cordonnier, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour l'attention portée à cette thèse et son aide dans la partie expérimentale,
Sincères remerciements.

À M. Loïc Desquilbet, Professeur à l'EnvA,

Pour son aide précieuse concernant les statistiques,
Sincères remerciements.

À M. Guillaume Robiteau, Docteur Vétérinaire,

Pour l'attention portée à cette thèse et ses précieux conseils,
Sincères remerciements.

Aux équipes des services de médecine préventive et de chirurgie du CHUVA,

Pour leur aide et leur coopération dans la partie expérimentale,
Sincères remerciements.

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures	3
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations	7
Introduction.....	9
Première partie : étude bibliographique.....	11
1. La physiologie de la reproduction chez la chatte	11
1.1. Le cycle sexuel de la chatte.....	11
1.1.1. La puberté	11
1.1.2. Les phases du cycle sexuel	11
1.1.2.1. Le pro-œstrus et l'œstrus	12
1.1.2.2. L'interœstrus.....	13
1.1.2.3. Le diœstrus	13
1.1.2.4. L'anœstrus	14
1.2. La gestation et la pseudogestation	14
1.2.1. La gestation	14
1.2.2. La pseudogestation	14
2. La colpocytologie féline	15
2.1. Méthodes de prélèvement, de fixation et de coloration.....	15
2.1.1. Anatomie de la vulve et du vagin	15
2.1.2. Méthode de prélèvements et de fixation.....	16
2.1.3. Méthodes de coloration	16
2.1.3.1. Coloration monochrome.....	16
2.1.3.2. Coloration différentielle.....	17
2.2. Types cellulaires observables au frottis vaginal.....	18
2.2.1. Les cellules parabasales.....	19
2.2.2. Les cellules intermédiaires	20
2.2.3. Les cellules superficielles nucléées	21
2.2.4. Les cellules superficielles anucléées.....	21
2.2.5. Les cellules sanguines.....	21
2.2.6. Les éléments exogènes	22
2.3. Évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel	22
2.3.1. Chez la chatte	22
2.3.1.1. Comparaison des protocoles	22
2.3.1.2. Comparaison des résultats obtenus.....	24
2.3.2. Chez les félins sauvages.....	27
2.4. Indices cytologiques	29
2.4.1. L'indice superficiel.....	29
2.4.2. L'indice caryopycnotique	29
2.4.3. L'indice éosinophilique.....	29
Deuxième partie : étude expérimentale.....	31

1. Introduction	31
2. Matériels et méthodes	31
2.1. Recrutement.....	31
2.2. Protocole	32
2.3. Méthode de lecture.....	33
2.4. Exploitation des données	34
3. Résultats.....	35
3.1. Résultats de recrutement et de lecture.....	35
3.2. Médianes et intervalles de confiance à 95% obtenus pour la coloration au RAL Diff Quik™	36
3.3. Médianes et intervalles de confiance à 95% obtenus pour la coloration au Diag-œstro RAL®	40
3.3. Résultats obtenus dans l'évaluation semi-quantitative de la présence des PNN et des hématies	44
4. Discussion.....	45
4.1. Le recrutement et les résultats.....	45
4.1.1. Le groupe 1 : les chattes prépubères	46
4.1.2. Le groupe 2 : les chattes en chaleurs	46
4.1.3. Le groupe 3 : les chattes en diœstrus gestantes	47
4.1.4. Le groupe 4 : les chattes en diœstrus non gestantes	47
4.1.5. Le groupe 5 : les chattes en interœstrus	48
4.1.6. Le groupe 6 : les chattes stérilisées.....	48
4.1.7. L'observation des cellules sanguines et des éléments exogènes.....	49
4.1.8. L'analyse statistique	50
4.2. Le protocole.....	50
4.2.1. La réalisation des frottis vaginaux.....	50
4.2.2. Les colorations et la lecture	50
4.2.3. La reproductibilité	52
4.3. Les perspectives de l'étude	53
Conclusion	55
Liste des références bibliographiques.....	57
Annexe 1 : Fiches explicatives à destination des propriétaires	61
Annexe 2 : Consentements éclairés à destination des propriétaires.....	63
Annexe 3 : Protocole de coloration à l'aide du kit RAL Diff Quik™, extrait de la notice d'utilisation.....	65
Annexe 4 : Protocole de coloration à l'aide du kit Diag-œstro RAL®, d'après (Dutey, 2015)	65
Annexe 5 : Base de données des résultats brutes (coloration RAL Diff Quik™).....	66
Annexe 6 : Base de données des résultats brutes (coloration Diag-œstro RAL®)....	69
Annexe 7 : Médianes et intervalles de confiance à 95% calculés après coloration à l'aide du kit RAL Diff Quik™	72
Annexe 8 : Médianes et intervalles de confiance à 95% calculés après coloration après coloration à l'aide du kit RAL Diag-œstro®.....	73

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du cycle sexuel de la chatte, d'après Tiret (2018a).	12
Figure 2 : Illustration de la posture caractéristique d'une chatte en chaleurs. Photographie personnelle.	13
Figure 3 : Coupe anatomique longitudinale du bas de l'appareil génital d'une chatte conservé dans le formol. Vestibule (a), vagin (b), urètre (c), corps utérin (d). D'après Zambelli et Cunto (2005). ...	15
Figure 4 : Représentation schématique d'une coupe longitudinale du bas de l'appareil génital de la chatte. Sinus uro-génital et vestibule (A), vagin (B), fornix (C). D'après Zambelli et Cunto (2005). 16	
Figure 5 : Écouvillon recommandé pour la réalisation du frottis vaginal chez la chatte (écouvillon alu stérile rayon-dacron en tube, COPAN). Photographie personnelle.	16
Figure 6 : Système de coloration à partir du kit RAL Diff Quik™. Photographie personnelle.	17
Figure 7 : Kit de coloration rapide Diag-œstro RAL®. Photographie personnelle.	17
Figure 8 : Représentation schématique d'une coupe histologique de l'épithélium vaginal des carnivores. Lame basale (1), cellule germinative (2), cellule parabasale (3), cellule intermédiaire (4), cellule superficielle (5). D'après Luc (2005).	18
Figure 9 : Classification des cellules épithéliales vaginales, chez la chienne, d'après Schutte (1967a)	19
Figure 10 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x100, coloration au RAL Diff Quik™). Les groupes de cellules parabasales sont entourés d'un cercle noir. Photographie personnelle.	20
Figure 11 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x400, coloration au Diag-œstro RAL®). Les flèches noires désignent des cellules intermédiaires. Photographie personnelle.	20
Figure 12 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x100, coloration au Diag-œstro RAL®). Les flèches noires désignent des cellules superficielles nucléées et les flèches rouges désignent des cellules superficielles anucléées. Photographie personnelle.	21
Figure 13 : Illustration de l'aspect des PNN observables au microscope optique (grossissement x400, coloration au RAL Diff Quik™). Les flèches noires désignent des PNN.	22
Figure 14 : Images microscopiques de frottis vaginaux de lionnes pendant l'œstrus (a,b) et le dioœstrus (c,d). D'après Callealta et al., 2020. Coloration de Wright-Giemsa modifiée.	28
Figure 15 : Illustration de l'aspect de cellules intermédiaires polychromatophiles observées au microscope optique (grossissement x400, coloration au Diag-œstro RAL®). Photographie personnelle.	30
Figure 16 : Histogramme des médianes et des intervalles de confiance à 95% de la proportion relative des cellules épithéliales et de l'indice superficiel (RAL Diff Quik™).	36
Figure 17 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration RAL Diff Quik™). Prépubère (A, B), en chaleurs (C, D), dioœstrus gestante (E, F). Photographie personnelle.	38
Figure 18 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration RAL Diff Quik™). Interœstrus (G, H), stérilisée (I, J). Photographie personnelle.	39
Figure 19 : Histogramme des médianes et des intervalles de confiance à 95% de la proportion relative des cellules épithéliales et de l'indice superficiel (Diag-œstro RAL®).	40

Figure 20 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration Diag-œstro RAL®). Prépubère (A,B), en chaleurs (C,D), diœstrus gestante (E,F). Photographies personnelles.	42
Figure 21 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration Diag-œstro RAL®). Interœstrus (G,H), stérilisée (I,J). Photographies personnelles.....	43
Figure 22 : Histogramme de l'évaluation semi-quantitative de la présence de PNN (RAL Diff Quik™). Absence (0), quantité faible (1), quantité modérée (2), quantité marquée (3).....	44
Figure 23 : Photographie d'un frottis de chatte en diœstrus gestante observé au microscope optique, mettant en évidence la présence de PNN en quantité modérée (grossissement x100, coloration RAL Diff Quik™). Photographie personnelle.	44
Figure 24 : Histogramme de l'évaluation semi-quantitative de la présence de PNN (Diag-œstro RAL®). Absence (0), quantité faible (1), quantité modérée (2), quantité marquée (3).....	45
Figure 25 : Illustration du regroupement des cellules parabasales observé au microscope optique (grossissement x100, coloration RAL Diff Quik™). Photographie personnelle.	52

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison des méthodes choisies pour l'analyse des frottis vaginaux, chez la chatte, dans la littérature scientifique. NR = non renseigné.	24
Tableau 2 : Comparaison des proportions relatives des cellules épithéliales vaginales en fonction de la phase du cycle sexuel, chez la chatte, dans la littérature scientifique. Interm. = intermédiaires, Sup. = superficielles.	27
Tableau 3 : Synthèse des critères de recrutement des 6 groupes de chattes dans l'étude.	32
Tableau 4 : Analyse semi-quantitative de la quantité de PNN et d'hématies.	34
Tableau 5 : Nombre de lames exploitables par coloration et par groupe.	35

Liste des abréviations

FSH : Follicle stimulating hormone
LH : Luteinizing hormone
GnRH : Gonadotropin releasing hormone
E2 : 17 β -oestradiol
P4 : Progestérone
PNN : Polynucléaire neutrophile
MGG : May-Grünwald et Giemsa
HS : Harris-Shorr
RNC : Rapport nucléo-cytoplasmique
NR : Non renseigné
cm : Centimètres
mm : Millimètres
G : Gauges
mL : Millilitres

Introduction

Les variations hormonales au cours du cycle sexuel sont à l'origine de variations de la composition cellulaire de l'épithélium vaginal des carnivores. Ainsi, l'analyse cytologique de frottis vaginaux est une technique indirecte permettant le suivi du cycle sexuel. La colpocytologie (ou cytologie vaginale) participe donc à la maîtrise de la reproduction et à l'exploration d'affections uro-génitales.

Chez la chatte, les caractéristiques de l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel a fait l'objet de peu d'études, incluant un faible nombre d'individus. Il est communément admis que la classification des cellules épithéliales vaginales décrite chez la chienne est applicable chez les autres carnivores. Néanmoins, les études menées chez la chienne et chez différentes espèces félines sauvages ont mis en évidence une importante variabilité interspécifique dans l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel. Les résultats obtenus chez une espèce ne peuvent donc être automatiquement transposés à une autre.

L'objectif de cette thèse est de décrire les caractéristiques de l'évolution de la colpocytologie chez la chatte, en situation physiologique. Après avoir décrit les données de la littérature, nous allons étudier les frottis vaginaux réalisés parmi des chattes prépubères, en chaleurs, en interœstrus, en diœstrus gestantes, en diœstrus non gestantes et parmi des chattes stérilisées. Puis, nous discuterons de nos résultats, en les comparant avec les données présentées dans la littérature.

Première partie : étude bibliographique

La première partie de cette thèse est une synthèse des données de la littérature concernant la physiologie de la reproduction chez la chatte et l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel.

1. La physiologie de la reproduction chez la chatte

1.1. Le cycle sexuel de la chatte

1.1.1. La puberté

La puberté se manifeste par l'apparition des premières chaleurs. Elle survient en moyenne entre 4 et 12 mois d'âge. Cet âge de la puberté varie selon plusieurs critères (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010) :

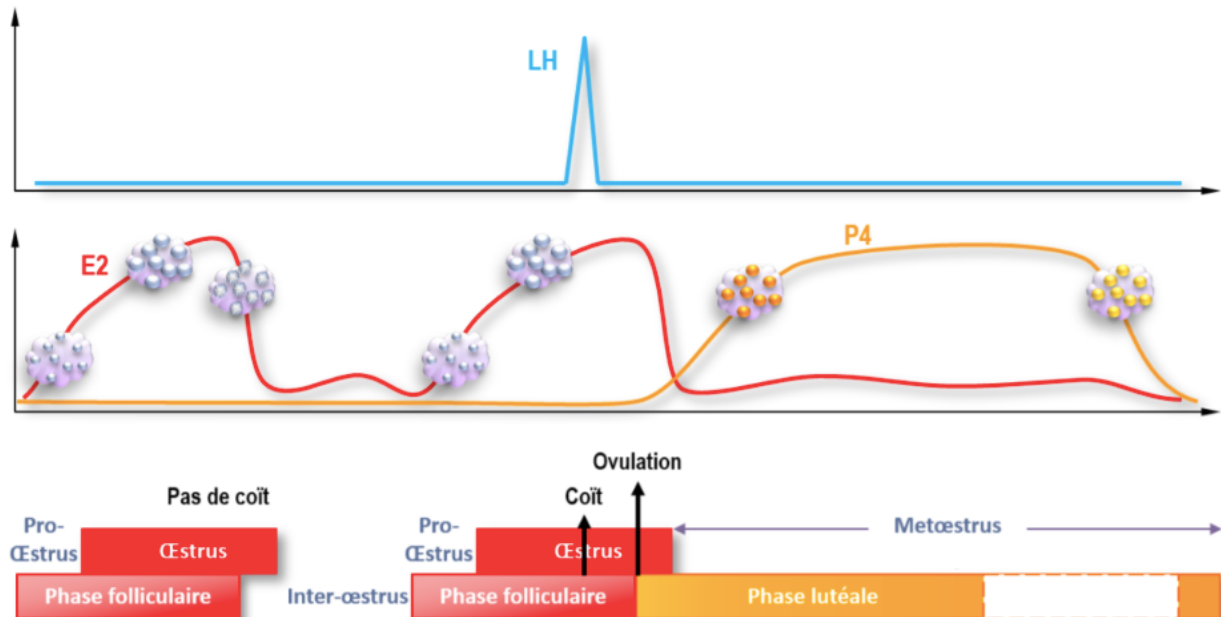
- La saison de naissance : les chattes nées au printemps n'atteignent souvent la puberté qu'au printemps de l'année suivante, soit vers 12 mois d'âge, tandis que les chattes nées en automne-hiver peuvent être pubères dès l'arrivée du printemps vers 5-6 mois d'âge
- La race : les chattes orientales (à poils courts) deviennent pubères plus précocement que les chattes de races à poils longs (races non orientales) et que les Manx par exemple
- Le développement corporel : environ 80% du poids corporel adulte doit être atteint
- La ration alimentaire
- L'environnement social.

1.1.2. Les phases du cycle sexuel

Le cycle sexuel de la chatte est saisonnier à jours longs et polyœstrien. Il est illustré par la figure 1 et se compose d'un cycle :

- Endocrinien, régi par les hormones hypothalamo-hypophysaires et les hormones stéroïdiennes
- Ovarien, comprenant phases folliculaires et phases lutéales
- Comportemental, incarné par la manifestation des chaleurs notamment.

Figure 1 : Représentation schématique du cycle sexuel de la chatte, d'après Tiret (2018a).



Cette figure met en évidence les cycles endocriniens, ovariens et comportementaux de la chatte (Tiret, 2018a). Les fluctuations de la concentration sanguine en 17β -œstradiol (E2) sont à l'origine de la croissance folliculaire. Le pic de l'hormone lutéinisante (LH) induit par le coït est à l'origine de l'ovulation dans un délai de 24 à 48h. La progestérone (P4) participe à la formation et au maintien du corps jaune durant la phase lutéale. La période d'activité sexuelle s'étend de février à octobre dans les régions tempérées. L'anoestrus dure donc trois à quatre mois. En période d'activité sexuelle, les phases de pro-œstrus, d'œstrus et d'interœstrus se succèdent en l'absence d'ovulation. Une période de diœstrus (ou métœstrus) fait suite à l'œstrus ovulatoire, qu'il y ait gestation ou non. Les caractéristiques de chaque phase sont décrites dans les paragraphes suivants.

1.1.2.1. Le pro-œstrus et l'œstrus

L'œstrus, aussi appelée période des chaleurs ou chaleurs, correspond à la période durant laquelle une chatte accepte l'accouplement avec les mâles. Il se manifeste par (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010) :

- Une augmentation de la fréquence des frottements de tête contre les humains et les objets
- Des vocalisations
- Une position de lordose accentuée par l'allongement de la face palmaire des membres antérieurs contre le sol (Figure 2)
- Plus rarement, une augmentation de la fréquence du marquage urinaire.

Une courte période (jusqu'à 48h) de pro-œstrus précède parfois l'œstrus chez une minorité de chattes. Il se manifeste par de discrets signes de chaleurs mais les chattes refusent l'accouplement avec les mâles. L'œstrus dure en moyenne quatre à cinq jours. D'après certains auteurs, il pourrait durer sporadiquement jusqu'à 19 jours (Shille *et al.*, 1979 ; Root Kustritz *et al.*, 1995). Certains auteurs suggèrent qu'un œstrus qui ne s'accompagne d'aucune saillie dure moins longtemps qu'un œstrus qui s'accompagne d'une ou de plusieurs saillie(s), qu'il y ait ovulation ou non (Johnston *et al.*, 2001a). Néanmoins, une absence de différence significative sur la durée de

l'œstrus entre les chattes saillies et les chattes non saillies a été mise en évidence dans d'autres études (Shille *et al.*, 1979 ; Wildt *et al.*, 1981 ; Root Kustritz *et al.*, 1995).

Figure 2 : Illustration de la posture caractéristique d'une chatte en chaleurs. Photographie personnelle.



Durant la phase folliculaire de l'œstrus, la concentration sanguine en E2 augmente progressivement. Dès lors que cette concentration est suffisamment élevée, l'E2 stimule la sécrétion de la gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus, permettant la survenue du pic pré-ovulatoire de LH, après induction mécanique par le coït (Figure 1). L'ovulation peut parfois être spontanée, suite à des stimuli visuels ou par le biais de phéromones. Elle concerne jusqu'à un tiers des chattes domestiques et serait positivement corrélée au poids (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010 ; Binder *et al.*, 2019). Les chattes au tempérament timide ou situées en bas de l'échelle sociale d'un groupe peuvent ne pas manifester de signes de chaleurs malgré l'augmentation de la concentration sanguine en E2. À l'inverse, certaines chattes présentent des chaleurs prolongées malgré une diminution de la concentration sanguine en E2 après la fin de la phase folliculaire. Un chevauchement de phases folliculaires similaire à ce que l'on observe chez la lapine est suspecté (Shille *et al.*, 1979).

Lors de l'ovulation, il se produit à la fois la reprise de la méiose de l'ovocyte, la rupture du pôle apical du follicule et la différenciation des cellules de la granulosa et de la thèque, permettant ainsi la formation du corps jaune. L'ovocyte bloqué en métaphase II est expulsé dans l'oviducte, où peut avoir lieu la fécondation (Wildt, 1991 ; Derouin-Tochon *et al.*, 2019).

1.1.2.2. L'interœstrus

En l'absence d'ovulation, l'interœstrus est la période qui fait suite à un œstrus et qui en précède un autre. Elle dure 8 à 15 jours. Cette période peut parfois sembler quasi-inexistante, chez les chattes de certaines races orientales en particulier, conduisant à un « syndrome de chaleurs permanentes » en période d'activité sexuelle (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010).

Durant l'interœstrus, les follicules s'atréfient et la concentration sanguine en E2 redevient basale. Elle augmente de nouveau progressivement avec la vague folliculaire suivante et jusqu'aux prochaines chaleurs (Figure 1).

1.1.2.3. Le dioœstrus

En présence d'ovulation, le dioœstrus est la période qui fait suite à l'œstrus. La présence du corps jaune signe le début de la phase lutéale. Le dioœstrus dure 25 à 45 jours lors d'une pseudogestation

(ovulation sans fécondation) et entre 63 à 65 jours en moyenne lors d'une gestation (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010).

La P4 est sécrétée par le corps jaune dès sa formation, que l'ovocyte ait été fécondé ou non. Elle est également sécrétée par le placenta en très faible quantité (Siemieniuch *et al.*, 2012). Elle exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion massive de GnRH par l'hypothalamus qui empêche l'initiation d'un pic de LH pré-ovulatoire. La production basale de GnRH est toujours active, permettant la production de vagues folliculaires mais sans ovulation. Certains auteurs suggèrent que les ovulations sont possibles durant le diœstrus gestant, ce qui serait à l'origine du phénomène de superfétation. Actuellement, aucune étude n'a permis de confirmer cette hypothèse. Les différences de taille parfois observées parmi les chatons d'une même portée pourraient être imputables à des retards de croissance. De même, les chatons d'une même portée peuvent ne pas avoir le même père, à l'origine d'une hétérogénéité potentielle de la portée (Johnston *et al.*, 2001b ; England, 2010). La P4 participe au maintien de la gestation, de même que l'inhibition des contractions utérines (Tiret, 2018b). La concentration sérique en P4 augmente fortement après l'ovulation jusqu'à atteindre un pic au 25^e jour post-ovulation puis elle diminue discrètement pour se maintenir à un plateau jusqu'à redevenir basale autour du 35^e jour lors d'une pseudogestation ou quelques heures avant la mise-bas lors d'une gestation (England, 2010).

1.1.2.4. L'anœstrus

Les chattes sont théoriquement en anœstrus pendant l'hiver dans les régions tempérées. De récentes études montrent qu'aussi bien dans les régions tempérées que dans les régions tropicales à équatoriales, la majorité des chattes exprime des chaleurs tout au long de l'année, bien que l'activité sexuelle soit plus intense en période de jours longs (Johnston *et al.*, 2001a ; da Silva *et al.*, 2006 ; England, 2010 ; Faya *et al.*, 2011 ; de Camargo *et al.*, 2021).

1.2. La gestation et la pseudogestation

1.2.1. La gestation

La fécondation a lieu dans l'oviducte. Les embryons rejoignent l'utérus au stade morula trois à quatre jours après l'ovulation. La gestation dure entre 52 et 74 jours (65 jours en moyenne) chez la chatte après l'ovulation. La taille des portées varie de 1 à 13 chatons, selon la race (Johnston *et al.*, 2001b ; England et Levy, 2010).

L'examen échographique est la technique d'imagerie de référence pour le diagnostic de gestation. Il permet un diagnostic précoce, ainsi qu'une évaluation de la taille des portées et de la viabilité des embryons. Le diagnostic de gestation est couramment réalisé 3 semaines après la dernière saillie, bien que les praticiens expérimentés dotés d'échographes de haute qualité puissent discerner des ampoules embryonnaires dès le 11^e jour de gestation. Les embryons sont alors identifiables à partir du 14^e jour et environ 24 à 48h après, des battements cardiaques peuvent être détectés (Zambelli *et al.*, 2002 ; England et Levy, 2010 ; Topie *et al.*, 2015).

1.2.2. La pseudogestation

La pseudogestation est caractérisée par la survenue d'une ovulation sans fécondation. Elle dure environ 40 jours et se manifeste le plus souvent uniquement par un discret épaissement des mamelles. Aucun changement comportemental n'est habituellement observé mais chez certaines chattes une prise de poids et des changements comportementaux peuvent faire suspecter une

gestation. Les chattes pseudogestantes se distinguent des chattes en interœstrus par l'absence d'un retour en chaleurs une dizaine de jours après la période d'œstrus précédente. La pseudogestation n'est pas nécessairement suivie d'une période d'anoœstrus, un retour en chaleurs après cette période est fréquent, ce qui augmente les chances d'entamer une gestation durant la période d'activité sexuelle (England, 2010).

Après avoir décrit les caractéristiques générales de la physiologie de la reproduction chez la chatte nous allons nous intéresser à une technique de suivi du cycle sexuel : la colpocytologie. Nous présenterons la méthode de réalisation du frottis vaginal, son traitement et les principes de son analyse cytologique au microscope optique.

2. La colpocytologie féline

Le frottis vaginal consiste au prélèvement de cellules épithéliales vaginales à l'aide d'un écouvillon. Son analyse cytologique présente un intérêt dans le suivi des chaleurs et la détection de chaleurs silencieuses. Elle présente également un intérêt dans certains contextes pathologiques comme une imprégnation œstrogénique d'origine tumorale, un syndrome de rémanence ovarienne ou une infection du tractus urinaire par exemple.

2.1. Méthodes de prélèvement, de fixation et de coloration

2.1.1. Anatomie de la vulve et du vagin

Crânialement aux lèvres vulvaires, l'entrée de l'appareil génital des chattes est constitué d'un sinus urogénital et d'un vestibule mesurant 1 à 2 mm de longueur et menant à un vagin très étroit (diamètre inférieur à 2 mm). Le col de l'utérus se situe 40 à 45 mm crânialement à la vulve et forme un angle obtus avec le vagin. Le fornix vaginal est situé ventro-latéralement au col. La présence d'un pli proéminent post-cervical dorso-médial a été rapporté dans plusieurs études (Crouch, 1969 ; Swanson, 1994). L'anatomie du bas de l'appareil génital de la chatte est illustrée par les figures 3 et 4 (Zambelli et Cunto, 2005).

Figure 3 : Coupe anatomique longitudinale du bas de l'appareil génital d'une chatte conservé dans le formol. Vestibule (a), vagin (b), urètre (c), corps utérin (d). D'après Zambelli et Cunto (2005).

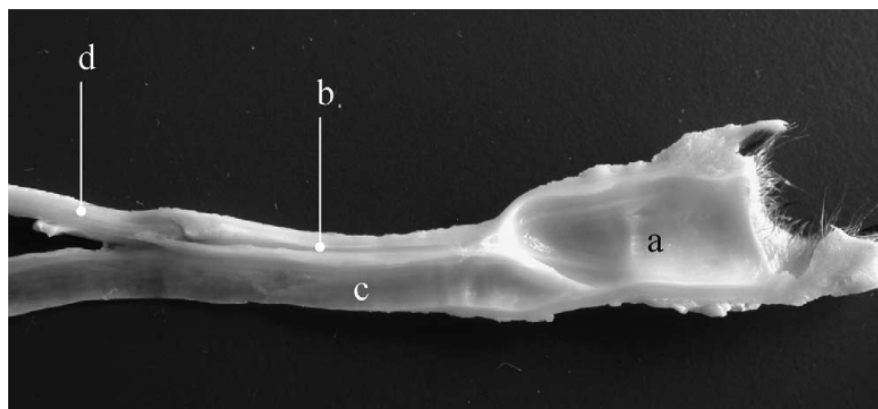
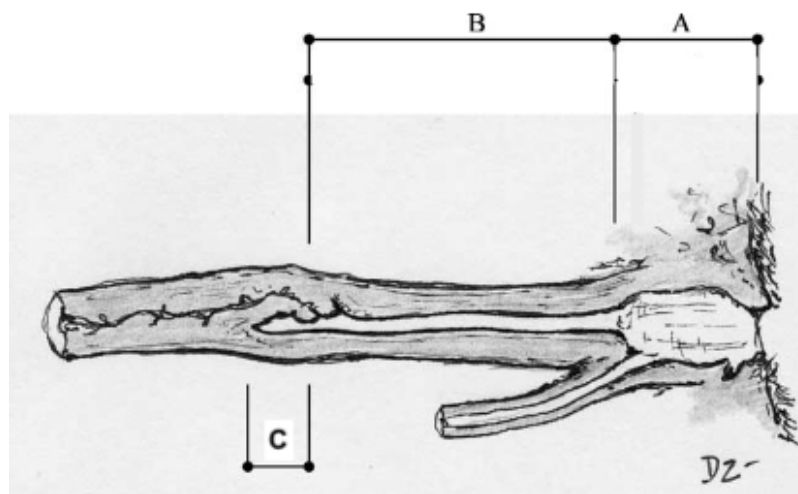


Figure 4 : Représentation schématique d'une coupe longitudinale du bas de l'appareil génital de la chatte. Sinus uro-génital et vestibule (A), vagin (B), fornix (C). D'après Zambelli et Cunto (2005).



2.1.2. Méthode de prélèvements et de fixation

Étant donné la taille réduite du vagin de la chatte, il est recommandé de réaliser les frottis vaginaux à l'aide d'un écouvillon du plus petit diamètre possible, comme les écouvillons urétraux utilisés en médecine humaine (Figure 5). Il convient de l'humidifier à l'aide de sérum physiologique pour faciliter son intronction et de n'introduire que l'extrémité cotonneuse (environ 5 mm) horizontalement dans le vestibule du vagin de la chatte au moment de l'examen. L'écouvillon peut être tourné sur lui-même une à deux fois avant d'être délicatement retiré. C'est un examen faiblement invasif et de très courte durée, pouvant donc être réalisé sur un animal vigile (Kustritz, 2020 ; Johnson, 2022).

Après le prélèvement, l'écouvillon est roulé sur lui-même au contact d'une lame en verre sur toute sa longueur pour étaler les cellules prélevées. La lame doit être séchée avant de procéder à l'étape de coloration. Les cellules peuvent également être fixées à l'aide d'un spray cytofixateur préalablement à la coloration.

Figure 5 : Écouvillon recommandé pour la réalisation du frottis vaginal chez la chatte (écouvillon alu stérile rayon-dacron en tube, COPAN). Photographie personnelle.



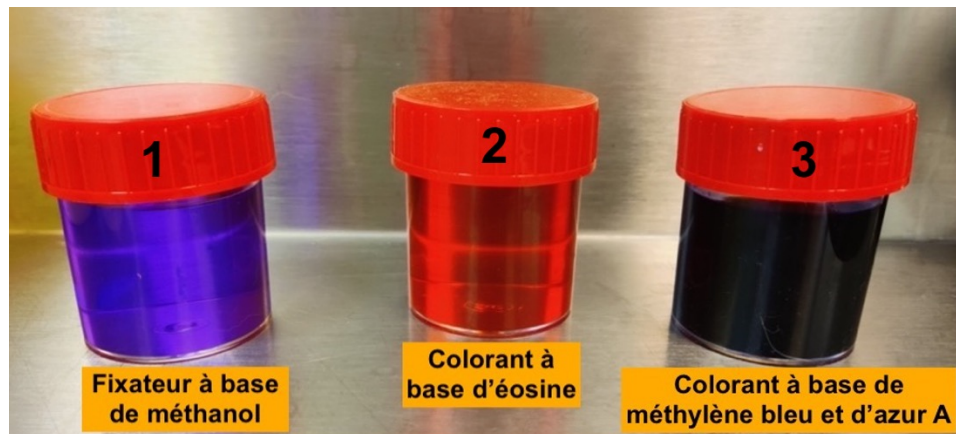
2.1.3. Méthodes de coloration

2.1.3.1. Coloration hématologique standard

La coloration de May-Grünwald et Giemsa (MGG) est la coloration hématologique standard en médecine vétérinaire. Elle est également utile à la coloration des lames de frottis vaginaux. Elle contient notamment de l'éosine (acide), du bleu de méthylène (basique) et de l'azur de méthylène

(basique). À la lecture au microscope optique, les éléments cellulaires acides donc basophiles, tels que les noyaux (acides nucléiques), fixeront le bleu de méthylène et l'azur de méthylène et apparaîtront de couleur violet foncé. Les éléments cellulaires acidophiles, tels que certains constituants cytoplasmiques, fixeront l'éosine et apparaîtront violet clair à rouge-orange. Il existe des kits de coloration rapide dont la composition est proche de celle de la coloration de MGG, comme le kit RAL Diff Quik™ (Figure 6).

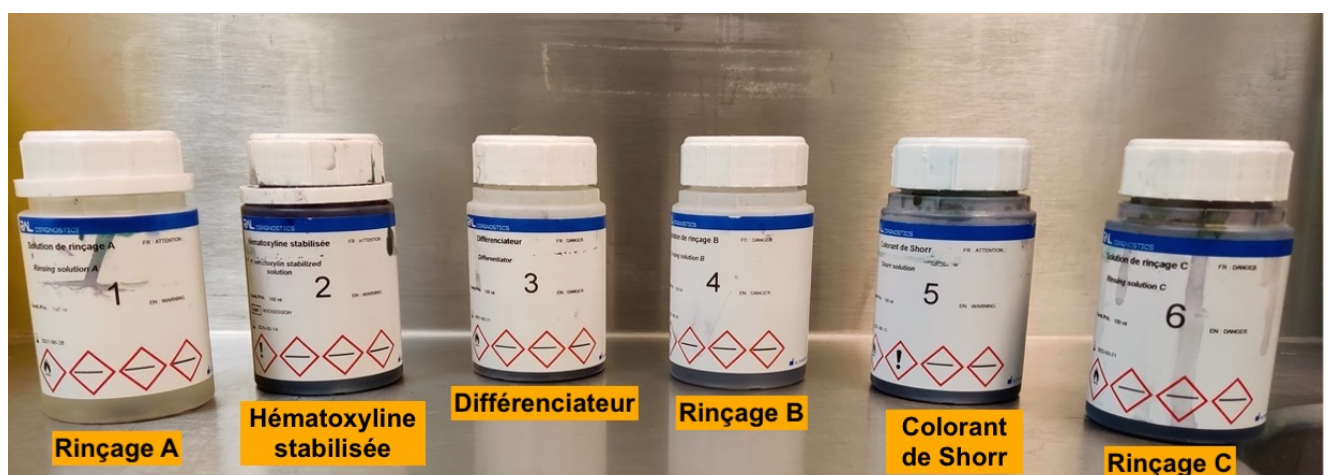
Figure 6 : Système de coloration à partir du kit RAL Diff Quik™. Photographie personnelle.



2.1.3.2. Coloration différentielle

La coloration de Harris-Shorr (HS) est une coloration dite différentielle. Elle contient notamment de l'hématoxyline de Harris qui colore les noyaux des cellules et du colorant de Shorr qui colore la kératine des cellules. À la lecture au microscope optique, la kératine des cellules apparaît orangée, les noyaux apparaissent orange foncés et les éléments cellulaires non kératinisés apparaissent bleus. On distinguera donc les cellules éosinophiles (oranges) et les cellules basophiles (bleues). Les cellules partiellement kératinisées sont dites polychromatophiles. Il existe en centrale d'achat des kits de coloration rapide, comme le kit Diag-œstro RAL® par exemple, qui permet une coloration en 6 étapes en 2 minutes contre 14 étapes en 16 minutes pour la coloration de Harris-Shorr traditionnelle (Figure 7). L'intérêt de son utilisation en colposcycologie chez la chienne a été récemment démontré (Dutey, 2015).

Figure 7 : Kit de coloration rapide Diag-œstro RAL®. Photographie personnelle.

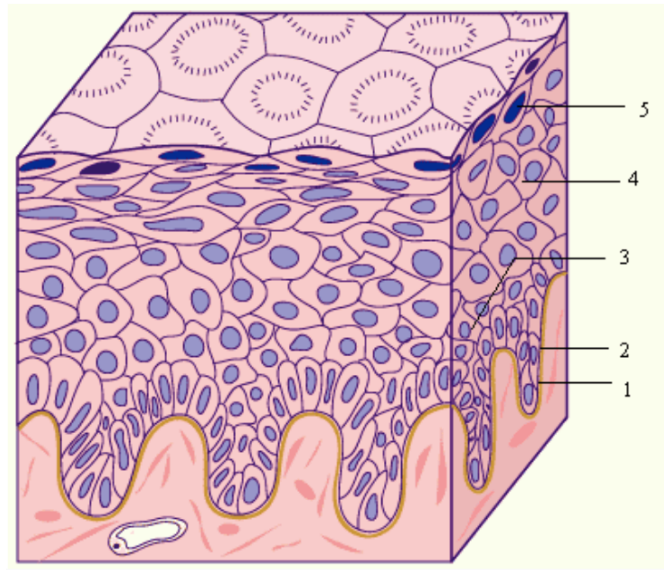


Noter que le bain d'eau distillée n'est pas présent sur la photographie ci-dessus.

2.2. Types cellulaires observables au frottis vaginal

L'épithélium vaginal est de type malpighien non kératinisé (Figure 8). La classification de référence des cellules épithéliales vaginales est la classification de Schutte (1967a). Initialement décrite pour la chienne, il est admis que cette classification est applicable aux frottis vaginaux de chattes (Mills *et al.*, 1979 ; Shille *et al.*, 1979 ; Kustritz, 2020).

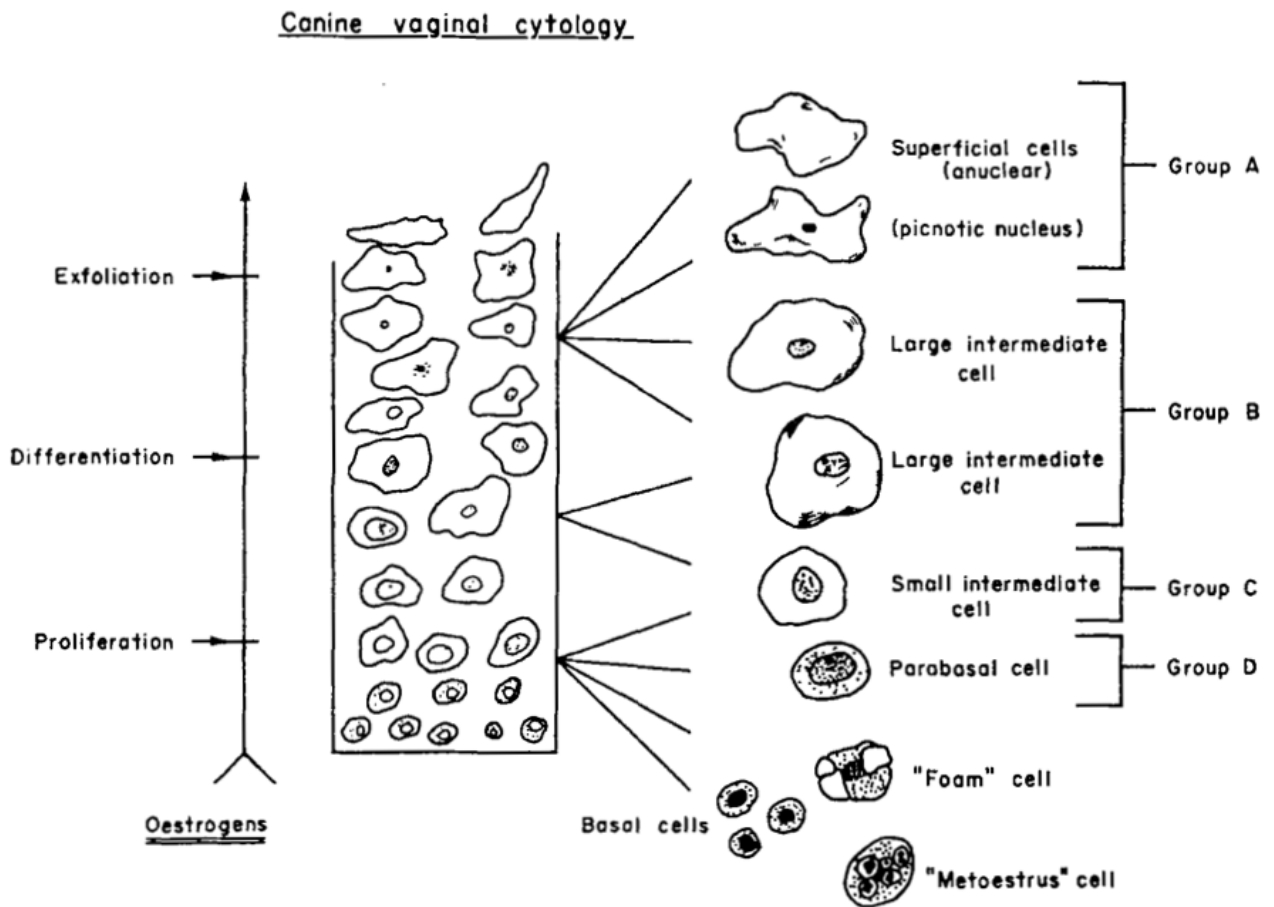
Figure 8 : Représentation schématique d'une coupe histologique de l'épithélium vaginal des carnivores. Lamelle basale (1), cellule germinative (2), cellule parabasale (3), cellule intermédiaire (4), cellule superficielle (5). D'après Luc (2005).



Il y a trois groupes de cellules observables au frottis vaginal : les cellules épithéliales, les cellules sanguines (hématies et polynucléaires neutrophiles) et les cellules exogènes (bactéries et spermatozoïdes).

Schutte a défini quatre groupes de cellules épithéliales désignés par les lettres A, B, C et D (Figure 9). Les cellules du groupe A sont les cellules les plus superficielles. Les cellules du groupe B sont les grandes cellules intermédiaires. Les cellules du groupe C sont les petites cellules intermédiaires. Les cellules du groupe D sont les cellules les plus profondes, les cellules parabasales. Les caractéristiques des différentes cellules épithéliales vaginales sont décrites ci-après (Schutte, 1967a ; Mills *et al.*, 1979 ; Kustritz, 2020).

Figure 9 : Classification des cellules épithéliales vaginales, chez la chienne, d'après Schutte (1967a)

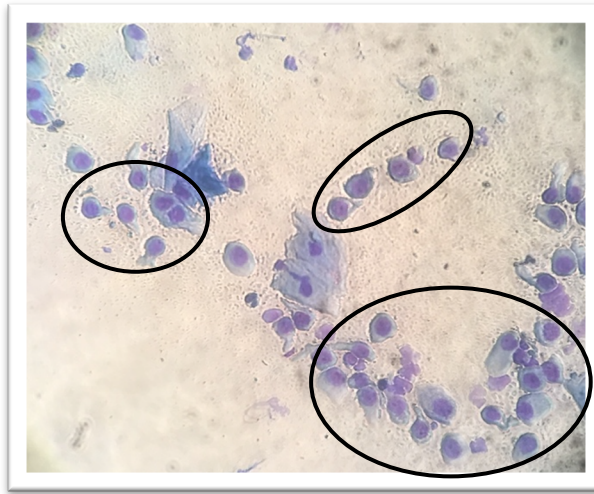


Cette figure illustre les différents types de cellules épithéliales vaginales et met en évidence la relation entre la concentration sanguine en E2 et la différenciation des cellules.

2.2.1. Les cellules parabasales

Les cellules de la lame basale et les cellules germinales ne sont pas retrouvées sur les lames de frottis vaginaux. Les cellules parabasales forment la première couche profonde accessible de l'épithélium vaginal. Ce sont de petites cellules rondes au rapport nucléo-cytoplasmique (RNC) élevé (Figure 10).

Figure 10 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x100, coloration au RAL Diff Quik™). Les groupes de cellules parabasales sont entourés d'un cercle noir. Photographie personnelle.

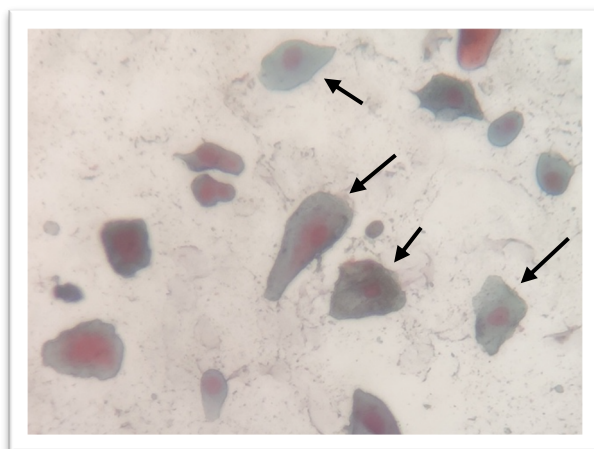


Sur la figure 10, les cellules sont reconnaissables par leur forme ronde, leur petite taille et la grande taille du noyau par rapport au contenu cytoplasmique.

2.2.2. Les cellules intermédiaires

Les cellules intermédiaires sont superposées aux cellules parabasales. Elles peuvent être divisées en petites et grandes cellules intermédiaires selon leur taille et leur degré de maturité (Figure 9). Néanmoins, cette différenciation décrite chez la chienne est moins pertinente chez la chatte. Elles sont ovoïdes, parfois discrètement anguleuses, en particulier quand elles sont grandes (Figure 11). Le RNC est plus faible que celui des cellules parabasales. Elles sont parfois partiellement kératinisées, soit polychromatophiles après coloration de HS.

Figure 11 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x400, coloration au Diag-œstro RAL®). Les flèches noires désignent des cellules intermédiaires. Photographie personnelle.



Sur la figure 11, les cellules intermédiaires sont reconnaissables par leur forme ronde à anguleuse, leur taille moyenne à grande et la diminution du RNC par rapport aux cellules parabasales.

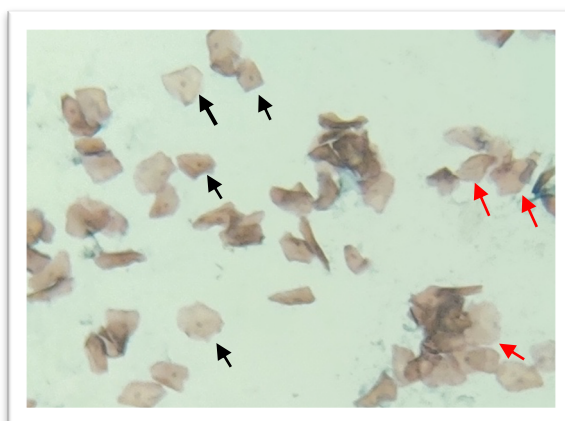
2.2.3. Les cellules superficielles nucléées

Les cellules superficielles nucléées sont superposées aux cellules intermédiaires et aux cellules parabasales qui forment la couche profonde de l'épithélium vaginal. Elles sont de grande taille, présentent des contours anguleux et un très faible RNC avec un noyau pycnotique. Elles sont dites kératinisées, soit éosinophiles ou polychromatophiles, à la coloration de HS.

2.2.4. Les cellules superficielles anucléées

Les cellules superficielles anucléées sont les cellules les plus superficielles de l'épithélium vaginal. On parle également de cellules squameuses. Elles sont de grande taille, présentent des contours anguleux et ne possèdent pas de noyau (Schutte, 1967a ; Mills *et al.*, 1979 ; Kustritz, 2020). Elles sont éosinophiles à la coloration de HS (Figure 12). Nous verrons que ce sont les cellules superficielles qui sont caractéristiques d'un œstrus chez la chatte.

Figure 12 : Illustration de l'aspect des cellules épithéliales observées au microscope optique (grossissement x100, coloration au Diag-œstro RAL®). Les flèches noires désignent des cellules superficielles nucléées et les flèches rouges désignent des cellules superficielles anucléées. Photographie personnelle.

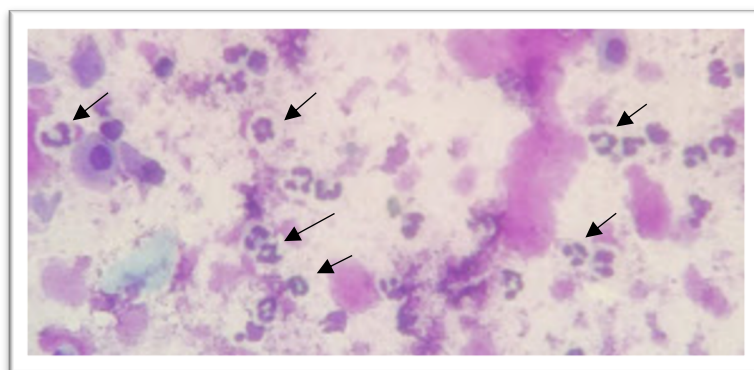


Sur la figure 12, les cellules superficielles sont reconnaissables par leur forme anguleuse, leur grande taille, leur éosinophilie et la présence d'un noyau pycnotique voire l'absence de noyau.

2.2.5. Les cellules sanguines

Un frottis vaginal de chatte peut comporter des polynucléaires neutrophiles (PNN) et des hématies (Figure 13).

Figure 13 : Illustration de l'aspect des PNN observables au microscope optique (grossissement x400, coloration au RAL Diff Quik™). Les flèches noires désignent des PNN.



Sur la figure 13, les PNN sont reconnaissables par leur petite taille (taille discrètement inférieure aux cellules parabasales) et leur noyau plurilobé.

2.2.6. Les éléments exogènes

Les autres éléments observables au frottis vaginal sont les bactéries, les spermatozoïdes et les débris cellulaires.

2.3. Évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel

La composition cellulaire de l'épithélium vaginal évolue sous l'influence des variations de la concentration sanguine en E2. L'imprégnation en E2 lors de la croissance folliculaire est à l'origine d'une division cellulaire importante de l'épithélium vaginal. Ainsi, les cellules se retrouvent progressivement éloignées de la lame basale et reçoivent moins de nutriments. Elles augmentent de taille par diffusion passive d'eau selon le gradient osmotique (diminution de la pression oncotique intracellulaire) et se kératinisent progressivement. Leur noyau se dégrade. Ainsi, le frottis d'une chatte en chaleurs comporte une majorité de cellules superficielles. Les données de la littérature concernant l'évolution de la colpocytologie chez la chatte et chez les félins sauvages, à chaque stade du cycle, sont exposées dans les paragraphes suivants.

2.3.1. Chez la chatte

Il y a peu d'études traitant de colpocytologie chez les félins domestiques dans la littérature. De plus, certaines d'entre elles comportent un faible nombre d'individus. Dans un premier temps, nous allons comparer les méthodes choisies par les différents auteurs puis nous allons comparer les résultats qu'ils ont obtenu.

2.3.1.1. Comparaison des protocoles

Le nombre de chattes incluses dans les études varie de 7 à 18, avec la réalisation de 10 à 112 frottis vaginaux. Les frottis vaginaux sont communément réalisés à l'aide d'écouvillons de faible diamètre, semblables aux écouvillons urétraux utilisés en médecine humaine. L'utilisation d'une tige en verre est rapportée dans une étude (Mills *et al.*, 1979). Après étalement sur une lame en verre et séchage

à l'air ou bien à l'aide d'un spray cytofixateur, les colorations utilisées sont celles de Romanowsky et de ses dérivés (coloration de Giemsa et coloration de Wright), de HS ou de Papanicolaou.

Cent cellules épithéliales sont couramment comptées, avec des classifications proches mais pas toujours identiques : certains auteurs ne font pas de distinction entre les cellules superficielles nucléées et les cellules superficielles anucléées (Mills *et al.*, 1979 ; Pertiwi *et al.*, 2018), d'autres comptent les grandes cellules intermédiaires comme des cellules superficielles par exemple (Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011). Les classifications n'étant pas parfaitement identiques d'un auteur à l'autre, la comparaison de leurs résultats sera à nuancer. La présence d'hématies, de PNN, de débris cellulaires et de bactéries est également notée. Le nombre de lecteurs n'est jamais mentionné. Kanca *et al.* (2014) se sont servis d'un logiciel mesurant la taille des cellules et de leur noyau pour le comptage des cellules.

L'identification de la phase du cycle sexuel pour chaque chatte reposait sur :

- Des critères comportementaux observés (Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979 ; Mattos *et al.*, 2003) ou rapportés par les propriétaires (Kanca *et al.*, 2014), l'acceptation de la saillie par le mâle (Shille *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Mattos *et al.*, 2003 ; Malandain *et al.*, 2011), le dosage de la concentration sanguine en E2 (Shille *et al.*, 1979) et le dosage de la concentration sanguine en P4 (Shille *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011 ; Kanca *et al.*, 2014) pour les chattes en œstrus
- La réalisation d'un examen échographique pour le suivi de la croissance folliculaire (Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011)
- L'absence de manifestation comportementale de chaleurs, le dosage de la concentration sanguine en E2 (Shille *et al.*, 1979) et le dosage de la concentration sanguine en P4 (Shille *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011 ; Kanca *et al.*, 2014) pour les chattes en interœstrus et en diœstrus.

Les critères comportementaux retenus comme étant des signes de chaleurs étaient les suivants : vocalisations, augmentation des frottements contre les objets, déviation de la queue dégageant la vulve, lordose associée à un allongement des membres antérieurs contre le sol. Le pro-œstrus était défini comme l'apparition du seul comportement suivant : l'augmentation des frottements de tête et du cou contre les objets par Shille *et al.* (1979). Mills *et al.* (1979) ont défini un score d'expression des chaleurs, allant de 0 à 5. Le score de 0 était attribué aux chattes ne manifestant aucun signe de chaleurs, les scores de 1 à 4 étaient attribués aux chattes présentant des signes de chaleurs accrus, le score de 5 était dédié aux chattes présentant des roulades, une déviation de la queue et l'élévation de la région lombo-sacrée. Néanmoins, d'après les auteurs, cette échelle a présenté un intérêt réduit dans le suivi du cycle œstral chez la chatte.

Les choix méthodologiques adoptés par les différents auteurs sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 1).

Tableau 1 : Comparaison des méthodes choisies pour l'analyse des frottis vaginaux, chez la chatte, dans la littérature scientifique. NR = non renseigné.

Source	Effectif	Nombre frottis	Type coloration	Grille de lecture	Nombre cellules
(Shille <i>et al.</i>, 1979)	14	NR	Coloration de Giemsa	Classification de Schutte, 1967a	100
(Mills <i>et al.</i>, 1979)	7	112	Coloration de Wright et coloration de Papanicolaou modifiée	Parabasales, intermédiaires et superficielles + nombre de PNN pour 100 cellules épithéliales + débris et bactéries (qualitatif).	100
(Froment, 2002 ; Malandain <i>et al.</i>, 2011)	8	83	Coloration de HS	Classification de Schutte, 1967a	100
(Mattos <i>et al.</i>, 2003)	18	36	Coloration à base d'hématoxyline et d'éosine	Parabasales, petites et intermédiaires, superficielles nucléées et anucléées + hématies, PNN, mucus, débris cellulaires (qualitatif)	200
(Kanca <i>et al.</i>, 2014)	15	15	Coloration de Papanicolaou	Parabasales, intermédiaires, superficielles nucléées et superficielles anucléées (basé sur la classification de Schutte, 1967a)	50
(Pertiwi <i>et al.</i>, 2018)	10	10	Coloration de Giemsa	Parabasales, intermédiaires, superficielles + nombre de PNN sur deux champs	100

Ce tableau répertorie le nombre de chattes recrutées dont le ou les frottis ont effectivement été analysés, le nombre total de frottis lus, le type de coloration utilisé, la grille de lecture choisie et le nombre de cellules comptées par frottis.

2.3.1.2. Comparaison des résultats obtenus

Une synthèse des données chiffrées concernant l'évolution des proportions des différentes cellules épithéliales au cours du cycle sexuel est présentée dans le tableau 2.

2.3.1.2.1. Pendant le pro-œstrus

La phase de pro-œstrus chez la chatte est fréquemment inexistante et de courte durée. Mills *et al.* (1979) rapporte un taux de 80% de cellules des couches profondes pendant le pro-œstrus, la présence de quelques PNN et de bactéries a également été observée chez une chatte.

2.3.1.2.2. Pendant l'œstrus

Durant l'œstrus, la concentration sanguine en E2 est maximale, les cellules superficielles nucléées et anucléées sont donc majoritaires sur les frottis vaginaux (Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Mattos *et al.*, 2003 ; Malandain *et al.*, 2011 ; Kanca *et al.*, 2014) (Tableau 2).

D'après Shille *et al.* (1979), elles représentent 95% des cellules épithéliales pendant toute la durée de l'œstrus. Ils ont noté une chute de 40 à 10% parmi les cellules intermédiaires pendant les quatre premiers jours de la phase folliculaire. Les cellules parabasales étaient absentes des frottis à partir du 4^e jour de la phase folliculaire et jusqu'à 24h après qu'elle soit terminée. Des hématies ont été observées en début de vague folliculaire et la présence de PNN a été observée en fin de phase folliculaire.

D'après Mills *et al.* (1979), les cellules superficielles représentent environ 90% des cellules observables au frottis vaginal pendant l'œstrus, avec une proportion importante de cellules superficielles anucléées. Ils notent un amincissement marqué du cytoplasme des cellules superficielles anucléées en fin d'œstrus. Ils n'ont observé aucune cellule parabasale et de rares PNN.

D'après Malandain *et al.* (2011), un frottis vaginal de chatte en chaleurs comporte 40 à 60% de superficielles nucléées, 20% d'anucleées et quasiment aucune cellule parabasale. Ils notent la présence de quelques PNN en fin d'œstrus.

Shille *et al.* (1979) ont mis en évidence l'absence de concordance absolue entre la manifestation des chaleurs, la concentration sanguine en E2 et la colpocytologie. En effet, certaines chattes ont présenté un pic de concentration en E2 un à deux jours avant de manifester des signes de chaleurs. De plus, un tiers des chattes a montré des signes de chaleurs avant l'identification claire d'une kératinisation de l'épithélium vaginal. Ces observations ont été confortées par d'autres travaux qui ont montré que la croissance folliculaire maximale était atteinte un à huit jours après le début des chaleurs, ce qui suggère que le suivi des chaleurs par l'approche comportementale n'est pas une méthode de référence pour le suivi de la croissance folliculaire (Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011).

2.3.1.2.3. Pendant l'interœstrus

En interœstrus, bien que la concentration sanguine en E2 redevienne basale, les cellules des couches profondes sont retrouvées en proportions très variables (Tableau 2). Elles représentent 16 à 92% selon les études (Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979 ; Kanca *et al.*, 2014 ; Johnson, 2022). D'après Shille *et al.* (1979), l'interœstrus est caractérisé par la présence d'environ 50% de cellules intermédiaires et 50% de cellules superficielles. D'après Kanca *et al.* (2014), il est caractérisé par une majorité de cellules intermédiaires. De façon générale, il a été observé que la composition du frottis d'interœstrus était très variable, ce dont il sera discuté dans la seconde partie de cette thèse.

2.3.1.2.4. Pendant le dioœstrus

Il n'existe que de peu de données concernant les caractéristiques du frottis vaginal d'une chatte gestante et d'une chatte pseudogestante (Tableau 2). Un taux de 100% de cellules profondes en dioœstrus (gestant ou pseudogestant) est rapporté (Johnson, 2022). Une étude rapporte un taux de 36% de cellules profondes en pseudogestation (Kanca *et al.*, 2014). Shille *et al.* (1979) n'ont pas observé de différence significative dans les proportions cellulaires entre les frottis des chattes en

interœstrus et ceux des chattes pseudogestantes. D'après Mills *et al.* (1979), un frottis de chatte en diœstrus comporte essentiellement des cellules des couches profondes. Ils rapportent un taux de 50% de cellules parabasales environ six jours après la fin des chaleurs. Ils notent la présence de quelques PNN pendant les deux à huit premiers jours après la fin des chaleurs.

2.3.1.2.5. Après stérilisation

Une étude rapporte qu'un frottis vaginal de chatte stérilisée comporterait environ 90% de cellules profondes (Pertiwi *et al.*, 2018) (Tableau 2). Parmi les cinq chattes stérilisées, les auteurs ont observé des proportions comparables de cellules épithéliales entre deux de ces chattes et une chatte en diœstrus. Néanmoins, les auteurs ont émis l'hypothèse que ces chattes présentaient un syndrome de rémanence ovarienne. Dans les travaux menés par Shille *et al.* (1979), les chattes stérilisées ont présenté des concentrations sanguines en E2 et en P4 basales pendant toute la durée de l'étude (18 mois).

2.3.1.2.6. Observation des cellules exogènes

Les PNN ont été observés systématiquement en faible quantité, pendant la fin de l'œstrus (Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011), pendant le début du diœstrus (Mills *et al.*, 1979) et pendant le début de l'interœstrus (Johnson, 2022).

Les hématies n'ont quasiment jamais été observées. En revanche, elles ont été visualisées chez deux chattes chez qui la présence d'une vaginite bactérienne a été mise en évidence par culture bactériologique à partir de l'écouvillon utilisé pour la réalisation du frottis. Les auteurs suggèrent que la présence d'hématies est un signe d'affection de l'appareil uro-génital et qu'elles sont absentes en contexte physiologique (Mills *et al.*, 1979).

Tableau 2 : Comparaison des proportions relatives des cellules épithéliales vaginales en fonction de la phase du cycle sexuel, chez la chatte, dans la littérature scientifique. Interm. = intermédiaires, Sup. = superficielles.

	Parabasales (%)	Interm. (%)	Sup. nucléées (%)	Sup. anucléées (%)	Source
Pro-œstrus	17,8	60,3	19,6	2,2	(Mills <i>et al.</i> , 1979)
Intercœstrus	2	48	46	4	(Shille <i>et al.</i> , 1979)
	28,5	62,9	7,6	1	(Mills <i>et al.</i> , 1979)
	7,2	8,6	34,0	50,2	(Kanca <i>et al.</i> , 2014)
	>50		<50		(Johnson, 2022)
Œstrus	0	6	56	38	Shille <i>et al.</i> , 1979)
	0,3	11,6	63,6	24,5	(Mills <i>et al.</i> , 1979)
	0	<25	>75		(Johnson, 2022)
Diœstrus gestant	100		0	0	(Johnson, 2022)
Diœstrus non gestant	14,5	21,4	37,1	27,0	(Kanca <i>et al.</i> , 2014)
	100	0	0	0	(Johnson, 2022)
Anœstrus	9,7	87,4	2,7	0,2	(Mills <i>et al.</i> , 1979)
Stérilisées	43,2	45,6	11,2		(Pertwi <i>et al.</i> , 2018)

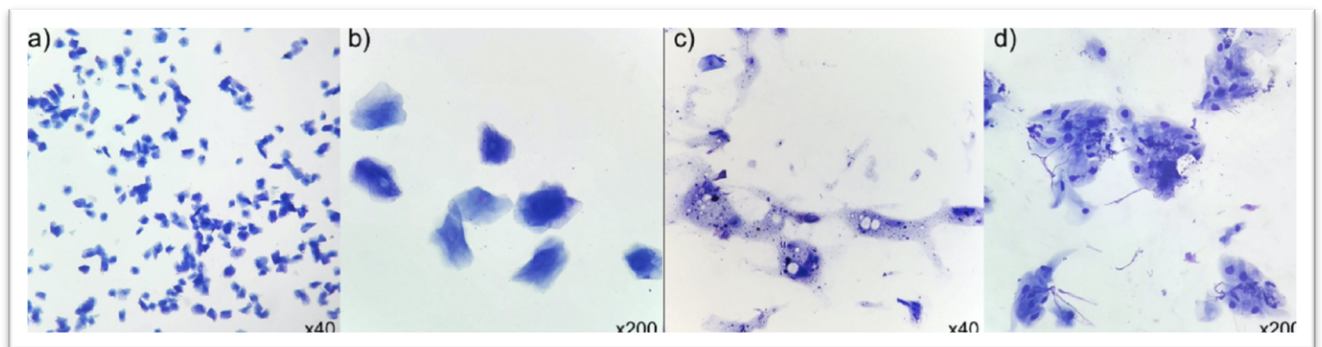
2.3.2. Chez les félins sauvages

L'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel a été étudiée dans huit espèces de félins sauvages, présentant comme la chatte, un cycle saisonnier polyœstrien : le guépard (*Acinonyx jubatus*), le lion (*Panthera leo*), le puma (*Felis concolor*) et le léopard (*Leopardis spp.*). Elle a également été étudiée chez un félin sauvage qui a la particularité de présenter un cycle monoœstrien associé à la persistance du corps jaune après la fin du diœstrus : le lynx (*Lynx lynx*). L'augmentation significative de la proportion de cellules superficielles pendant l'œstrus est systématiquement notée, mais des différences interspécifiques ont été mises en évidence sur l'ensemble du cycle (Bonney *et al.*, 1981 ; Asa *et al.*, 1992 ; Moreira *et al.*, 2001 ; Kirberger *et al.*, 2011 ; Painer *et al.*, 2014 ; Callealta *et al.*, 2020).

Chez la femelle guépard (*Acinonyx jubatus*), à partir de trois individus, une augmentation de la proportion de cellules superficielles, en particulier anucléées (> 60%), a été mise en évidence durant l'œstrus, suivie d'une imprégnation marquée en PNN durant le diœstrus non gestant. Les PNN étaient rarement observés durant la gestation. Ainsi, la disparition des PNN au frottis vaginal pourrait participer au diagnostic de gestation chez la femelle guépard et à une approximation de la date de conception (Asa *et al.*, 1992).

Chez la lionne (*Panthera leo*), il a été mis en évidence, à partir de cinq individus, qu'une proportion élevée de cellules superficielles associée à la présence de nombreuses bactéries (*Simonsiella* spp.) sans PNN et sans débris cellulaires était caractéristique d'un œstrus (Figure 14). Les cellules parabasales, intermédiaires et superficielles étaient retrouvées en proportions similaires pendant l'interœstrus, associées à une quantité modérée de PNN, de mucus et de débris cellulaires et une quantité faible de bactéries. Une proportion élevée de cellules des couches profondes, associée à la présence de quelques PNN, de quelques bactéries, ainsi que de beaucoup de mucus et de débris cellulaires, était caractéristique d'un diœstrus (Figure 14) (Callealta *et al.*, 2020).

Figure 14 : Images microscopiques de frottis vaginaux de lionnes pendant l'œstrus (a,b) et le diœstrus (c,d). D'après Callealta *et al.*, 2020. Coloration de Wright-Giemsa modifiée.



Le frottis d'œstrus met en évidence une majorité de cellules superficielles. Le frottis de diœstrus montre la présence de cellules intermédiaires et de mucus.

La femelle lynx (*Lynx lynx*) a la particularité de présenter un cycle mono-œstrien car le corps jaune est persistant au moins deux ans après la fin de la gestation ou de la pseudogestation (Painer *et al.*, 2014). Elle présente donc un diœstrus prolongé après l'unique œstrus annuel. À partir de 20 individus, Painer *et al.* (2014) ont mis en évidence une kératinisation de l'épithélium vaginal proche de 100% pendant l'œstrus. Durant le diœstrus « initial », une persistance de la kératinisation a été observée avec des taux de cellules superficielles d'environ 60 à 70%. Pendant le diœstrus prolongé, les frottis vaginaux étaient variables, dominés par les cellules parabasales ou bien par les cellules intermédiaires.

Chez la femelle puma (*Felis concolor*), une majorité de cellules superficielles a été observée pendant l'œstrus et une majorité de cellules parabasales et intermédiaires a été observée durant l'interœstrus (Bonney *et al.*, 1981). Néanmoins, les auteurs ont constaté que l'utilisation de la colpocytologie, seule, était insuffisante pour le suivi du cycle sexuel dans cette espèce.

2.4. Indices cytologiques

Les indices cytologiques ont été définis pour aider à identifier la phase du cycle dans laquelle une femelle se trouve. Il existe 3 indices principaux : l'indice superficiel, l'indice caryopycnotique et l'indice éosinophilique. Ces indices ont pour objectif d'identifier l'œstrus en évaluant le degré de différenciation des cellules épithéliales observées au frottis vaginal. Un indice élevé serait donc en faveur d'un œstrus (Schutte, 1967b).

2.4.1. L'indice superficiel

L'indice superficiel est le rapport suivant :

$$\frac{\text{nombre de cellules des couches superficielles}}{\text{nombre de cellules des couches profondes}} \times 100$$

Il permet d'évaluer le degré de kératinisation des cellules épithéliales vaginales.

Chez la chienne, lorsque cet indice est élevé (> 70%), il est décrit comme un indicateur d'imprégnation œstrogénique (Schutte, 1967b). Il présente également l'avantage d'être rapide à calculer, et ce à partir de n'importe quelle coloration cytologique.

Chez la chatte, l'utilisation de cet indice n'est pas rapporté.

2.4.2. L'indice caryopycnotique

L'indice caryopycnotique est le rapport suivant :

$$\frac{\text{nombre de cellules superficielles avec noyau pycnotique}}{\text{nombre de cellules superficielles avec noyau vésiculaire}} \times 100$$

Il permet d'évaluer l'intensité de l'effet des œstrogènes sur la composition du noyau de la cellule. Lors d'imprégnation œstrogénique, la proportion de cellules possédant un noyau pycnotique augmente. La distinction entre un noyau pycnotique (de petite taille, aux contours irréguliers et foncé) et un noyau vésiculaire étant fortement lecteur-dépendant, cet indice est considéré comme moins informatif que les autres, aussi bien chez la chienne que chez la chatte (Schutte, 1967b ; Mills *et al.*, 1979).

2.4.3. L'indice éosinophilique

L'indice éosinophilique est le rapport suivant :

$$\frac{\text{nombre de cellules éosinophiles}}{\text{nombre de cellules basophiles}} \times 100$$

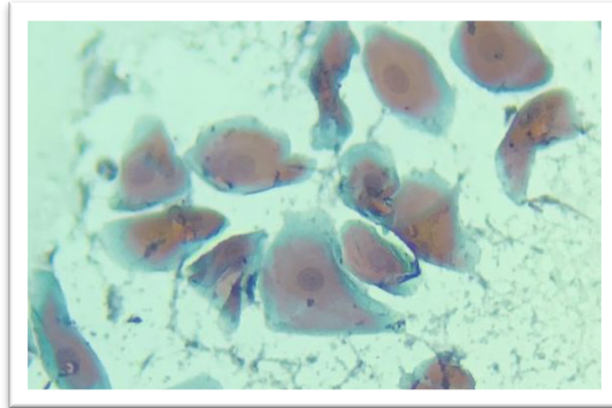
(sans compter les petites cellules intermédiaires et les cellules parabasales)

Cet indice se calcule à partir de la coloration de HS. Chez la chienne, la littérature scientifique fait état de résultats équivoques concernant la fiabilité de cette indice pour l'identification de l'œstrus car certaines cellules peuvent présenter une éosinophilie non représentative de leur degré de différenciation (Figure 15). De plus, la distinction entre une petite cellule intermédiaire et une grande

cellulaire intermédiaire peut varier d'un lecteur à l'autre. Or, ce potentiel défaut de classement fera varier la valeur de l'indice éosinophilique.

Chez la chatte, durant l'œstrus, l'indice éosinophilique est rapporté supérieur à 85% (Mills *et al.*, 1979 ; Malandain *et al.*, 2011).

Figure 15 : Illustration de l'aspect de cellules intermédiaires polychromatophiles observées au microscope optique (grossissement x400, coloration au Diag-œstro RAL®). Photographie personnelle.



Sur cette figure on observe des cellules intermédiaires polychromatophiles à dominante éosinophile dont la forme et la taille du noyau suggèrent pourtant que ce ne sont pas des cellules superficielles.

Après avoir décrit la physiologie de la reproduction et les données de la littérature concernant l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel chez la chatte, la seconde partie de cette thèse sera dédiée à la présentation de l'étude expérimentale que nous avons menée.

Deuxième partie : étude expérimentale

1. Introduction

L'objectif de cette étude était de décrire les caractéristiques de la colpocytologie physiologique chez la chatte, avant la puberté, à chaque étape du cycle sexuel, lors d'une gestation et après stérilisation, en travaillant avec un effectif de chattes élevé.

2. Matériels et méthodes

2.1. Recrutement

Au cours de l'étude, nous avons recruté des chattes présentées en consultation au Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort pour les animaux de compagnie (Chuv-AC), dans les services de reproduction (CERCA), de médecine préventive et de chirurgie, entre février 2020 et novembre 2021.

L'objectif était de constituer 6 groupes de chattes selon différents critères (Tableau 3). Dans un premier temps, il est essentiel de définir les manifestations comportementales associées à l'œstrus que nous avons choisies car elles tiennent une place importante dans les critères de recrutement. Une chatte est dite en chaleurs si son propriétaire rapporte qu'elle présente un ou plusieurs des signes suivants :

- Une augmentation de la fréquence des frottements de tête contre les humains et les objets
- Des vocalisations
- Une position de lordose accentuée par l'allongement des membres antérieurs contre le sol
- Une déviation de la queue dégageant la vulve.

Le groupe 1 est constitué des chattes prépubères. Elles sont âgées de 3 à 6 mois et le propriétaire ne rapporte aucun signe de chaleurs.

Le groupe 2 est constitué des chattes en chaleurs. Ces chattes ont été recrutées suite à l'observation des manifestations comportementales associées à l'œstrus définies précédemment, par le propriétaire. Rappelons que la manifestation des chaleurs ne coïncide pas parfaitement avec les fluctuations de la concentration sanguine en E2 (Shille *et al.*, 1979). Nous n'aurons donc pas de frottis vaginaux de chattes qui présentent une élévation de leur concentration sanguine en E2 sans manifestation comportementale associée par exemple (Shille *et al.*, 1979). Ce groupe de chattes est uniquement basé sur un critère comportemental, repéré par les propriétaires, en l'absence de mâles.

Le groupe 3 est constitué des chattes en diœstrus gestantes. Ces chattes sont incluses après un diagnostic de gestation positif réalisé par examen échographique (échographe LF8®, General Electric) fait par un vétérinaire spécialisé, trois semaines après la dernière saillie. Nous n'aurons donc que des frottis vaginaux de chattes gestantes depuis au moins trois semaines.

Le groupe 4 est constitué des chattes en diœstrus non gestantes. Ces chattes sont incluses après un diagnostic de gestation négatif réalisé par examen échographique fait par un vétérinaire spécialisé, trois semaines après la dernière saillie. De plus, la concentration sérique en P4 doit être non basale (> 1 ng/mL) afin de ne pas confondre ces chattes avec les chattes en interœstrus (Wildt, 1978 ; Malandain *et al.*, 2011).

Le groupe 5 est constitué des chattes en interœstrus. Ces chattes ont été recrutées suite à l'absence d'observation de manifestations comportementales associées à l'œstrus, par le propriétaire. De plus, la concentration sérique en P4 doit être basale (< 1 ng/mL) afin de ne pas confondre ces chattes avec les chattes pseudogestantes (Wildt, 1978 ; Malandain *et al.*, 2011).

Le groupe 6 est constitué des chattes stérilisées. Ces chattes ont été ovariectomisées ou ovariohystérectomisées depuis plus de deux ans et les propriétaires n'ont observé aucun signe de chaleurs depuis. La limite de deux ans a été fixée arbitrairement, en supposant que si la chatte présentait un syndrome de rémanence ovarienne, les propriétaires auraient eu l'opportunité de le noter dans ce laps de temps.

Les chattes suspectées de présenter une affection concomitante de l'appareil uro-génital (pyomètre, vaginite, kystes ovariens, hyperplasie glandulo-kystique etc.) étaient exclues.

Tableau 3 : Synthèse des critères de recrutement des 6 groupes de chattes dans l'étude.

Groupe	Critères
1 : Chattes prépubères	Chatte âgée de 3 à 6 mois, n'ayant jamais manifesté de signe de chaleurs
2 : Chattes en chaleurs	Chatte exprimant un ou plusieurs signe(s) de chaleurs
3 : Chattes en diœstrus gestantes	Diagnostic de gestation positif
4 : Chattes en diœstrus non gestantes	Diagnostic de gestation négatif + concentration sérique en P4 non basale (> 1 ng/mL)
5 : Chattes en interœstrus	Chatte n'exprimant aucun signe de chaleurs + concentration sérique en P4 basale (< 1 ng/mL)
6 : Chattes stérilisées	Chatte ovariectomisée ou ovariohystérectomisée depuis plus de 2 ans et aucun signe de chaleurs depuis

Lorsqu'une chatte était susceptible d'être incluse dans l'étude, une fiche explicative ainsi qu'un consentement éclairé étaient présentés au propriétaire (Annexe 1, 2).

2.2. Protocole

Le frottis vaginal était réalisé après accord du propriétaire et signature du consentement éclairé. Pour cela, un écouvillon (écouvillon alu stérile rayon-dacron en tube, COPAN) humidifié à l'aide de deux à trois gouttes de sérum physiologique (solution de NaCl 0,9%) était introduit horizontalement dans le vestibule du vagin sur environ 0,5 cm de longueur et tourné sur lui-même une à deux fois avant d'être délicatement retiré (Figure 3). Les frottis vaginaux ont été réalisés par moi-même et par deux vétérinaires spécialisés, avec la même technique. Une contention minimale était suffisante, réalisée par le propriétaire ou par un étudiant vétérinaire.

Pour les chattes susceptibles d'appartenir au groupe 4 ou au groupe 5, environ 1 mL de sang était prélevé à la veine jugulaire ou à la veine saphène interne, à l'aide d'une aiguille 23G montée sur une seringue de 2 mL. Immédiatement après la ponction, le sang était transvasé sur tube sec

(Tube BD Vacutainer stérile en PET 13*75, CAT (silice)). Le dosage de la P4 était ensuite réalisé au Biopôle de l'EnvA (dosage par chimi-immunoluminescence, IMMULITE® 2000 XPi, Siemens, Allemagne) le jour-même.

Les cellules étaient ensuite étalées en deux colonnes parallèles sur deux lames de verre, puis fixées à l'aide d'un spray cytofixateur (CytoRAL®). Chaque lame était identifiée par le nom de la chatte, son numéro de dossier CLOVIS (logiciel client utilisé au Chuv-AC) et la date de prélèvement, à l'aide d'un marqueur indélébile.

Après séchage à l'air de quelques minutes, une première lame était colorée à l'aide du kit RAL Diff Quik™ (RAL Diff Quik STAIN SET (3 x 0,5L), RAL DIAGNOSTIC, France) selon le protocole figurant en annexe 3, appliqué avec les bains présentés en figure 6. La seconde lame était colorée à l'aide du kit Diag-œstro RAL® (RAL DIAGNOSTIC, France) selon le protocole figurant en annexe 4, appliqué avec les bains présentés en figure 7.

La date et le numéro de dossier CLOVIS associés à chaque nouveau frottis étaient ajoutés à un fichier Excel®. Les lames obtenues ont été stockées dans des porte-lames jusqu'à la période de lecture, en séparant les lames colorées au RAL Diff Quik™ des lames colorées au Diag-œstro RAL®.

2.3. Méthode de lecture

Après la période de réalisation des frottis (février 2020 - novembre 2021), les lames ont été lues par moi-même au microscope optique. Les lames n'étant identifiées que par le nom de la chatte, la date de prélèvement et le numéro de dossier CLOVIS, le statut des chattes n'était pas connu au moment de la lecture.

Elles ont été observées au grossissement x100 dans un premier temps, afin d'évaluer le frottis de manière globale et de choisir la zone de lecture. L'objectif était que la zone de lecture soit représentative de l'ensemble du frottis mais qu'elle permette également une identification optimale des cellules présentes. Ainsi, après une évaluation subjective de la proportion des différents types cellulaires, le comptage des cellules a été réalisé au grossissement x400 dans une zone représentative de cette proportion estimée et où les cellules étaient suffisamment espacées pour être correctement reconnues. Cent cellules épithéliales étaient identifiées et classées en cellule parabasale, intermédiaire, superficielle nucléée ou superficielle anucléée selon les critères présentés dans la partie bibliographique (paragraphe 2.2.).

Au grossissement x400, il a également été évalué semi-quantitativement la présence de PNN et d'hématies sur les champs ayant permis le comptage des 100 cellules épithéliales (Tableau 4). Un score de 0 à 3 était attribué. Le score de 0 correspondait à l'absence de cellules sanguines. Le score de 1 correspondait à une quantité faible de cellules sanguines, c'est-à-dire qu'elles n'étaient pas systématiquement présentes sur les champs utilisés pour l'identification des cellules épithéliales. Le score de 2 correspondait à une quantité modérée de cellules sanguines, c'est-à-dire qu'elles étaient présentes sur tous les champs utilisés pour l'identification des cellules épithéliales mais en quantité suffisamment modérée pour permettre une évaluation précise de leur nombre. Le score de 3 correspondait à une quantité marquée de cellules sanguines, c'est-à-dire qu'elles étaient présentes sur tous les champs utilisés pour l'identification des cellules épithéliales mais en quantité abondante, ne permettant pas une évaluation précise de leur nombre.

Tableau 4 : Analyse semi-quantitative de la quantité de PNN et d'hématies.

Note	Critères
0 : absence	PNN/hématies : non visualisé(e)s sur aucun des champs lus
1 : quantité faible	PNN/hématies : visualisé(e)s sur une partie des champs lus
2 : quantité modérée	PNN/hématies : visualisé(e)s sur tous les champs lus, un comptage est possible
3 : quantité marquée	PNN/hématies : visualisé(e)s sur tous les champs lus, un comptage n'est pas possible

Entre 8 et 12 lames étaient lues par jour en alternant chaque jour entre le porte-lame contenant les lames colorées au RAL Diff Quik™ et celui contenant les lames colorées au Diag-œstro RAL®, afin que deux lames lues à la suite n'appartiennent pas à la même chatte. À la fin d'une journée de lecture, les résultats initialement répertoriés à la main dans un cahier étaient reportés dans le fichier Excel®.

2.4. Exploitation des données

Une fois la lecture de l'ensemble des lames terminée, l'analyse du dossier de chaque chatte a permis de reporter dans le fichier Excel® leur groupe d'appartenance. Dans les dossiers CLOVIS, nous avons donc analysé l'âge des chattes, la mention de signes chaleurs observés ou non par le propriétaire, le statut stérilisé ou non stérilisé (et la date de la stérilisation éventuelle), la valeur des dosages de P4 et le résultat des examens échographiques le cas échéant.

L'analyse statistique des résultats a consisté à évaluer la normalité de la distribution des proportions de chaque type cellulaire pour chaque groupe afin de faire le choix entre le calcul des moyennes et de leur écart-type ou des médianes et de leur intervalle de confiance. Étant donné le nombre de variables incluses dans l'étude, l'utilisation d'un test multiple permettant de rechercher des différences significatives invitant à étendre nos résultats à la population féline générale, n'est pas envisageable du fait de la taille réduite de nos échantillons.

3. Résultats

3.1. Résultats de recrutement et de lecture

Un total de 302 lames de frottis ont été réalisées entre février 2020 - novembre 2021, soit 151 chattes recrutées. Seulement deux frottis ont été réalisés chez trois chattes uniquement parmi les 151, nous avons donc choisi de traiter les lames de frottis obtenues comme si elles étaient issues d'individus distincts. Les chattes recrutées étaient âgées de 4 mois à 12 ans, avec environ 60% de chattes de race (Maine Coon, Abyssin, British Shorthair, Birman, Somalie et Sibérien) et 40% de chattes dites européennes.

Après la période de lecture (environ 50h), les cellules épithéliales ont été classées en cellule parabasale, intermédiaire, superficielle nucléée ou superficielle anucléée selon les critères évoqués précédemment. Sur les frottis colorés au Diag-œstro RAL®, les cellules polychromatophiles, de grande taille, anguleuses, au RNC faible ont été identifiées comme intermédiaires si elles étaient à dominante basophile et comme superficielles nucléées si elles étaient à dominante éosinophile.

Après la période d'attribution, 94 lames colorées au RAL Diff Quik® et 88 lames colorées au Diag-œstro RAL® ont formé la base de données (Annexe 5,6) car le groupe d'appartenance de chaque chatte n'a pas pu être systématiquement identifié par manque d'information (P4 non dosée par exemple), ce qui a conduit à éliminer 40 chattes. De plus, 42 autres lames ont été éliminées pour des raisons techniques (nombre de cellules identifiables insuffisant, défaut de coloration, lame endommagée etc.).

Ainsi, les résultats présentés sont issus de l'analyse de 182 frottis vaginaux. Le nombre de lames exploitables (lecture possible et groupe de la chatte identifié) par coloration et par groupe est présenté dans le tableau suivant (Tableau 5).

Les chattes en interœstrus ont présenté des valeurs de concentration sérique en P4 comprises entre moins de 0,2 et 0,9 ng/mL. Les chattes en dioœstrus ont présenté des valeurs de concentration sérique en P4 comprises entre 1,5 et supérieur à 40 ng/mL.

Tableau 5 : Nombre de lames exploitables par coloration et par groupe.

Groupe	RAL Diff Quik®	Diag-œstro RAL®
1 : Chattes prépubères	16	18
2 : Chattes en chaleurs	16	14
3 : Chattes en dioœstrus gestantes	12	13
4 : Chattes en dioœstrus non gestantes	19	20
5 : Chattes en interœstrus	10	14
6 : Chattes stérilisées	13	15

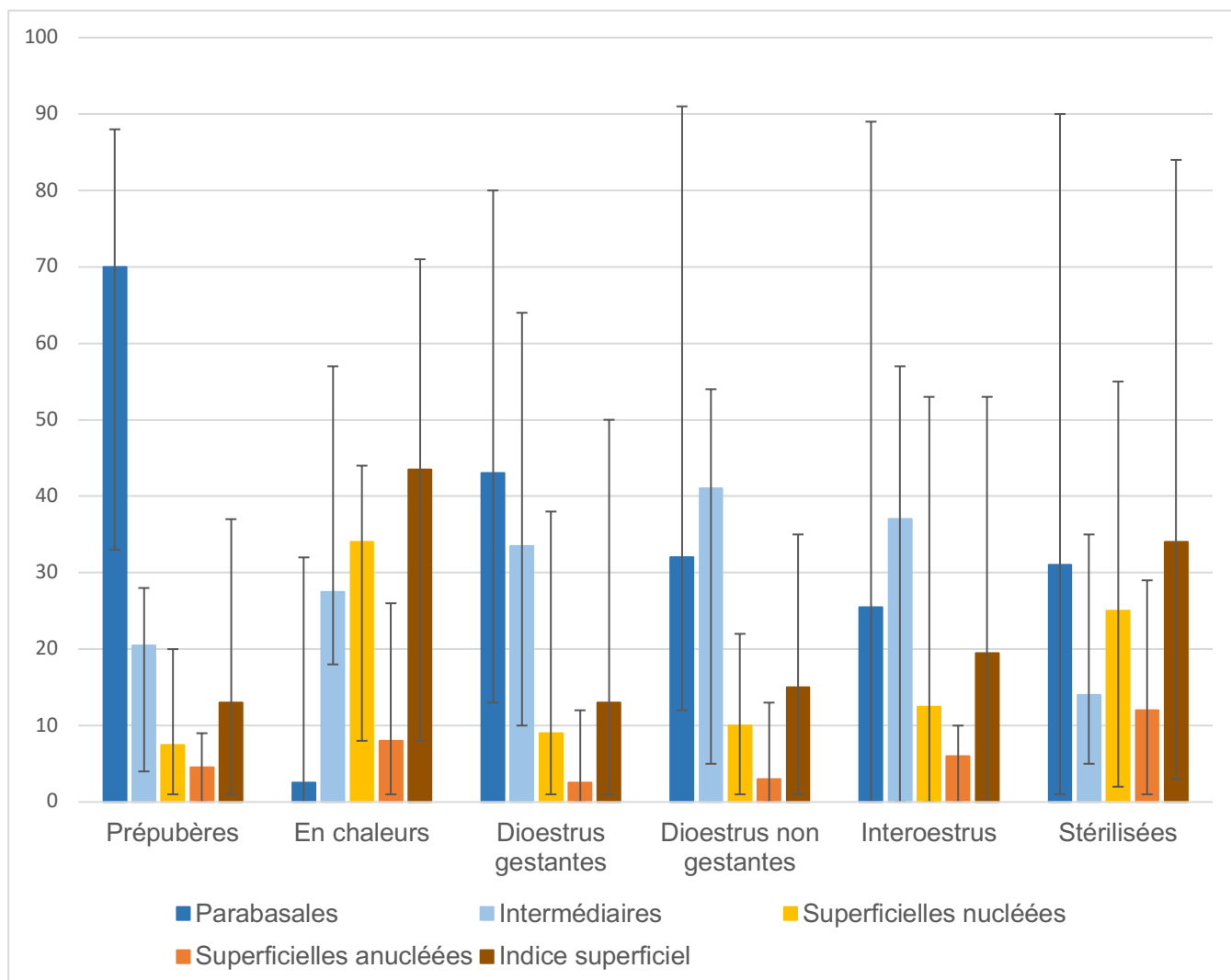
La normalité de la distribution a été testée en traçant les histogrammes des proportions de chaque type cellulaire pour chaque groupe. Étant donné que les critères de normalité n'étaient pas remplis (absence de courbe gaussienne), la technique adaptée à notre démarche descriptive a été

le calcul de la médiane de la proportion de chaque type cellulaire pour chaque groupe et pour chaque coloration, ainsi que le calcul des intervalles de confiance à 95% associés (Annexe 7,8).

3.2. Médianes et intervalles de confiance à 95% obtenus pour la coloration au RAL Diff Quik™

Une représentation graphique des médianes obtenues et des intervalles de confiance à 95% est présentée ci-après (Figure 16).

Figure 16 : Histogramme des médianes et des intervalles de confiance à 95% de la proportion relative des cellules épithéliales et de l'indice superficiel (RAL Diff Quik™).



Dans nos échantillons, nous observons que (les chiffres entre parenthèses sont les valeurs des médianes) :

- Chaque type de cellules épithéliales est présent pour chaque groupe
- Les chattes prépubères ont présenté la proportion de cellules parabasales la plus élevée (70,0%)
- Les chattes en chaleurs ont présenté l'indice superficiel le plus élevé (43,5%)

- Les chattes en diœstrus non gestantes ont présenté la proportion de cellules intermédiaires la plus élevée (41,0%)
- Les chattes stérilisées ont présenté la proportion de cellules superficielles anucléées la plus élevée (12,0%)
- Les chattes stérilisées ont présenté un indice superficiel supérieur (34,0%) à celui des chattes en diœstrus (13,0% pour les gestantes, 15,0% pour les non gestantes) et à celui des chattes en interœstrus (19,5%)
- Le comptage des cellules parabasales et des cellules intermédiaires a été à l'origine d'intervalles de confiance larges à très larges, tandis que le comptage des cellules superficielles anucléées a donné lieu à des intervalles de confiance plus resserrés.

Les figures suivantes illustrent :

- La proportion importante de cellules parabasales parmi les chattes prépubères (Figure 17, A,B)
- La proportion importante de cellules superficielles nucléées et anucléées parmi les chattes en chaleurs (Figure 17, C,D)
- La proportion importante de cellules parabasales et de cellules intermédiaires parmi les chattes en diœstrus, avec l'exemple d'un frottis de chatte gestante (Figure 17, E,F)
- La présence d'environ 80% de cellules des couches profondes pour environ 20% de cellules superficielles parmi les chattes en interœstrus (Figure 18, G,H)
- La proportion importante de cellules superficielles nucléées et anucléées parmi les chattes stérilisées (Figure 18, I,J).

Figure 17 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration RAL Diff Quik™). Prépubère (A, B), en chaleurs (C, D), diœstrus gestante (E, F). Photographie personnelle.

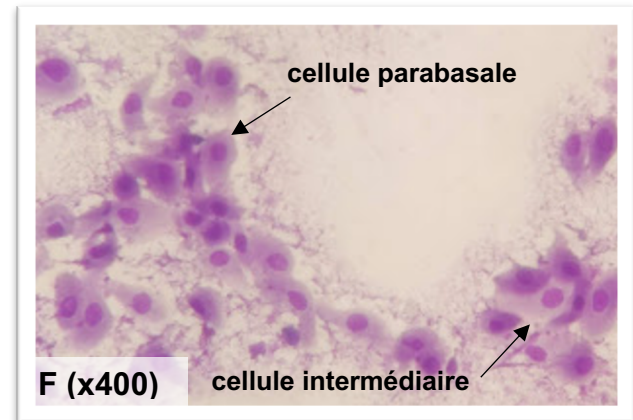
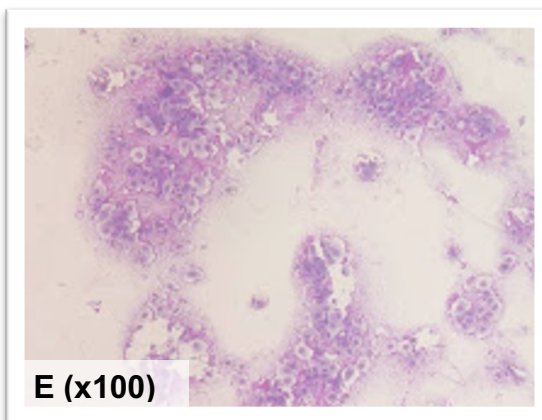
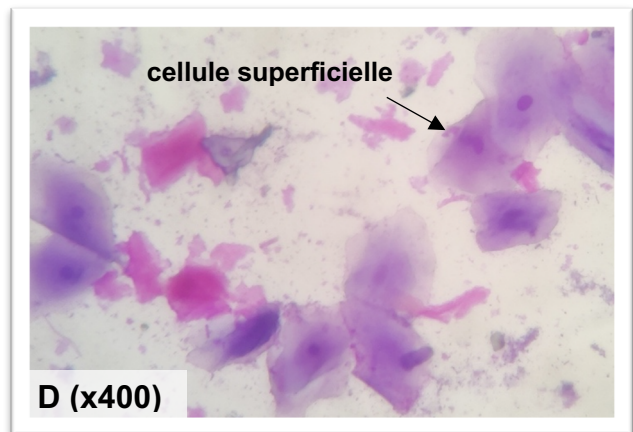
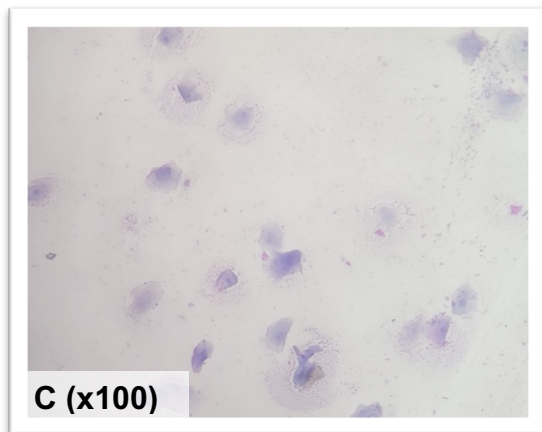
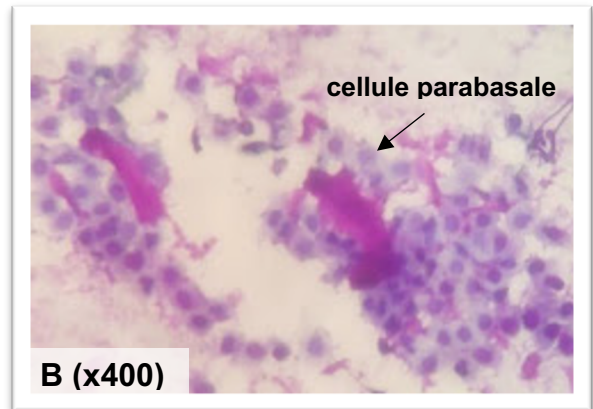
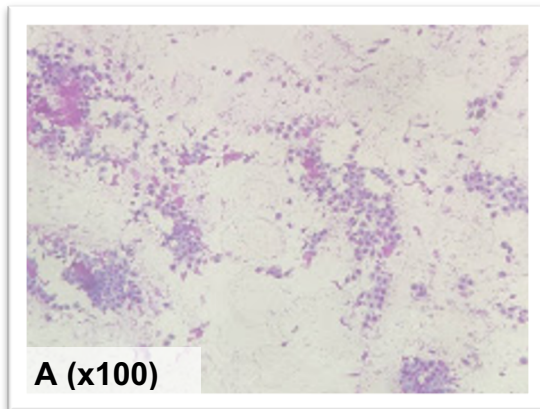
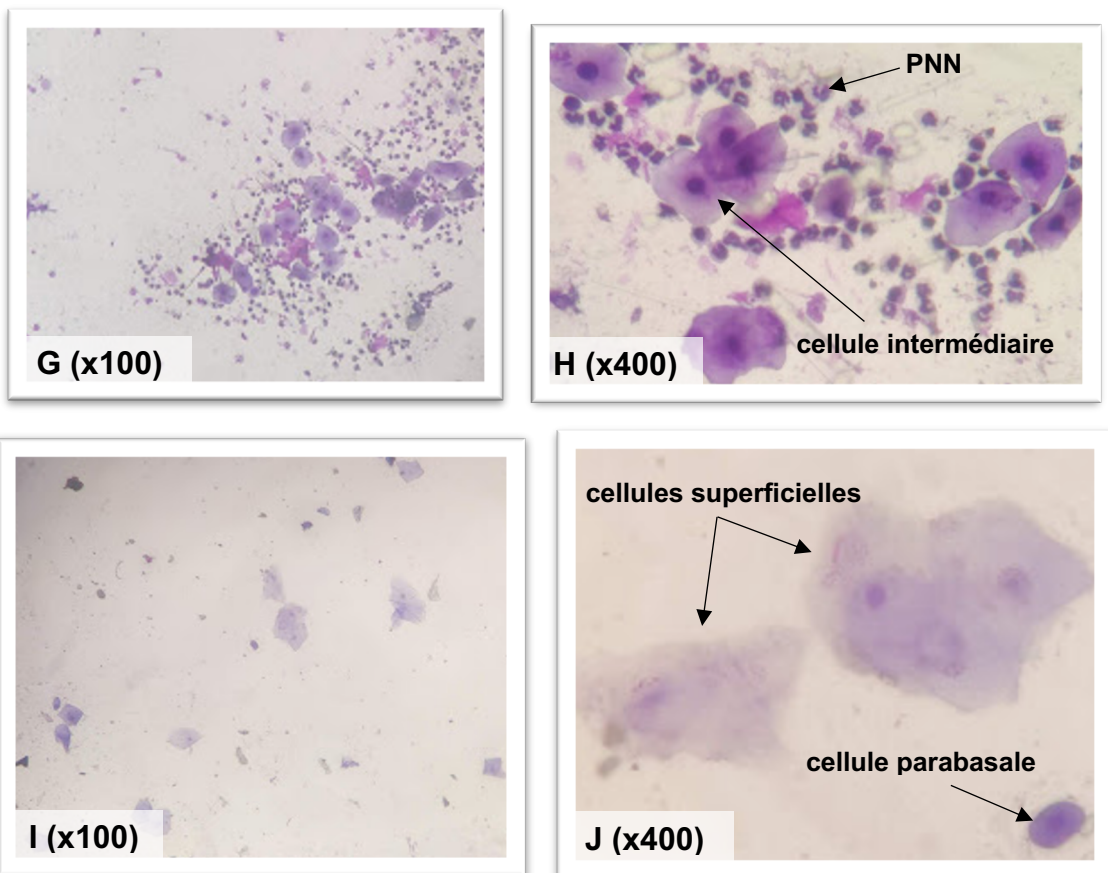


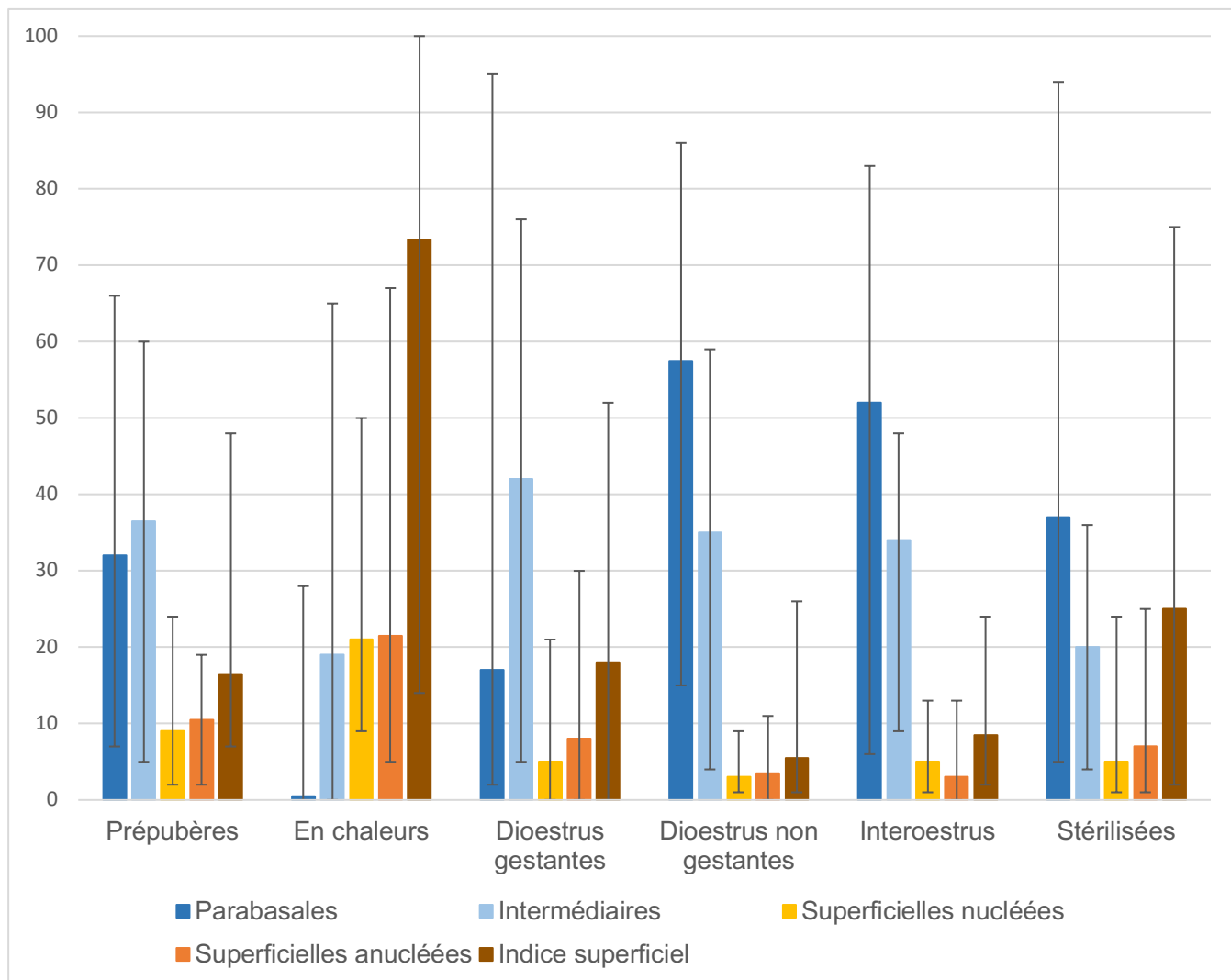
Figure 18 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration RAL Diff Quik™). Interœstrus (G, H), stérilisée (I, J). Photographie personnelle.



3.3. Médianes et intervalles de confiance à 95% obtenus pour la coloration au Diag-œstro RAL®

Une représentation graphique des médianes obtenues et des intervalles de confiance à 95% est présentée ci-après (Figure 19).

Figure 19 : Histogramme des médianes et des intervalles de confiance à 95% de la proportion relative des cellules épithéliales et de l'indice superficiel (Diag-œstro RAL®).



Dans nos échantillons, nous observons que (les chiffres entre parenthèses sont les valeurs des médianes) :

- Les cellules parabasales ont été presque absentes parmi les chattes en chaleurs (0,5%)
- Les chattes en chaleurs ont présenté l'indice superficiel le plus élevé (73,3%)
- Les chattes en dioestrus gestantes ont présenté la proportion de cellules intermédiaires la plus élevée (42,0%)
- Les chattes en dioestrus non gestantes ont présenté la proportion de cellules parabasales la plus élevée (57,5%)

- Les chattes stérilisées ont présenté un indice superficiel supérieur (25,0%) à celui des chattes en diœstrus (18,0% pour les gestantes, 5,5% pour les non gestantes) et à celui des chattes en interœstrus (8,5%)
- Les chattes prépubères ont présenté un indice superficiel supérieur (16,5%) à celui des chattes en diœstrus non gestantes (5,5%) et à celui des chattes en interœstrus (8,5%)
- Les chattes en diœstrus non gestantes et les chattes en interœstrus ont présenté des indices superficiels inférieurs à 10,0%
- Le comptage des cellules parabasales et des cellules intermédiaires a été à l'origine d'intervalles de confiance larges à très larges, tandis que le comptage des cellules superficielles a donné lieu à des intervalles de confiance un peu plus resserrés.

Nous observons également que :

- La proportion de cellules des couches profondes parmi les chattes prépubères était supérieure après coloration au RAL Diff Quik™ qu'après coloration au Diag-œstro RAL®
- Les indices superficiels étaient plus élevés après coloration au Diag-œstro RAL® qu'après coloration au RAL Diff Quik™ parmi les chattes prépubères, les chattes en chaleurs et les chattes en diœstrus gestantes et moins élevés parmi les chattes en diœstrus non gestantes, les chattes en interœstrus et les chattes stérilisées
- La proportion de cellules des couches profondes parmi les chattes en diœstrus et les chattes en interœstrus était supérieure après coloration au Diag-œstro RAL® qu'après coloration au RAL Diff Quik™.

Les figures suivantes illustrent :

- La proportion importante de cellules superficielles parmi les chattes prépubères en comparaison aux résultats obtenus avec la coloration RAL Diff Quik™ (Figure 20, A,B)
- La proportion importante de cellules superficielles nucléées et anucléées parmi les chattes en chaleurs (Figure 20, C,D)
- La proportion importante de cellules intermédiaires parmi les chattes gestantes (Figure 20, E,F)
- La proportion importante de cellules parabasales parmi les chattes en diœstrus non gestantes et les chattes en interœstrus, avec l'exemple d'un frottis de chatte en diœstrus non gestante (Figure 21, G,H)
- La proportion importante de cellules superficielles nucléées et anucléées parmi les chattes stérilisées (Figure 21, I,J).

Figure 20 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration Diag-œstro RAL®). Prépubère (A,B), en chaleurs (C,D), diœstrus gestante (E,F). Photographies personnelles.

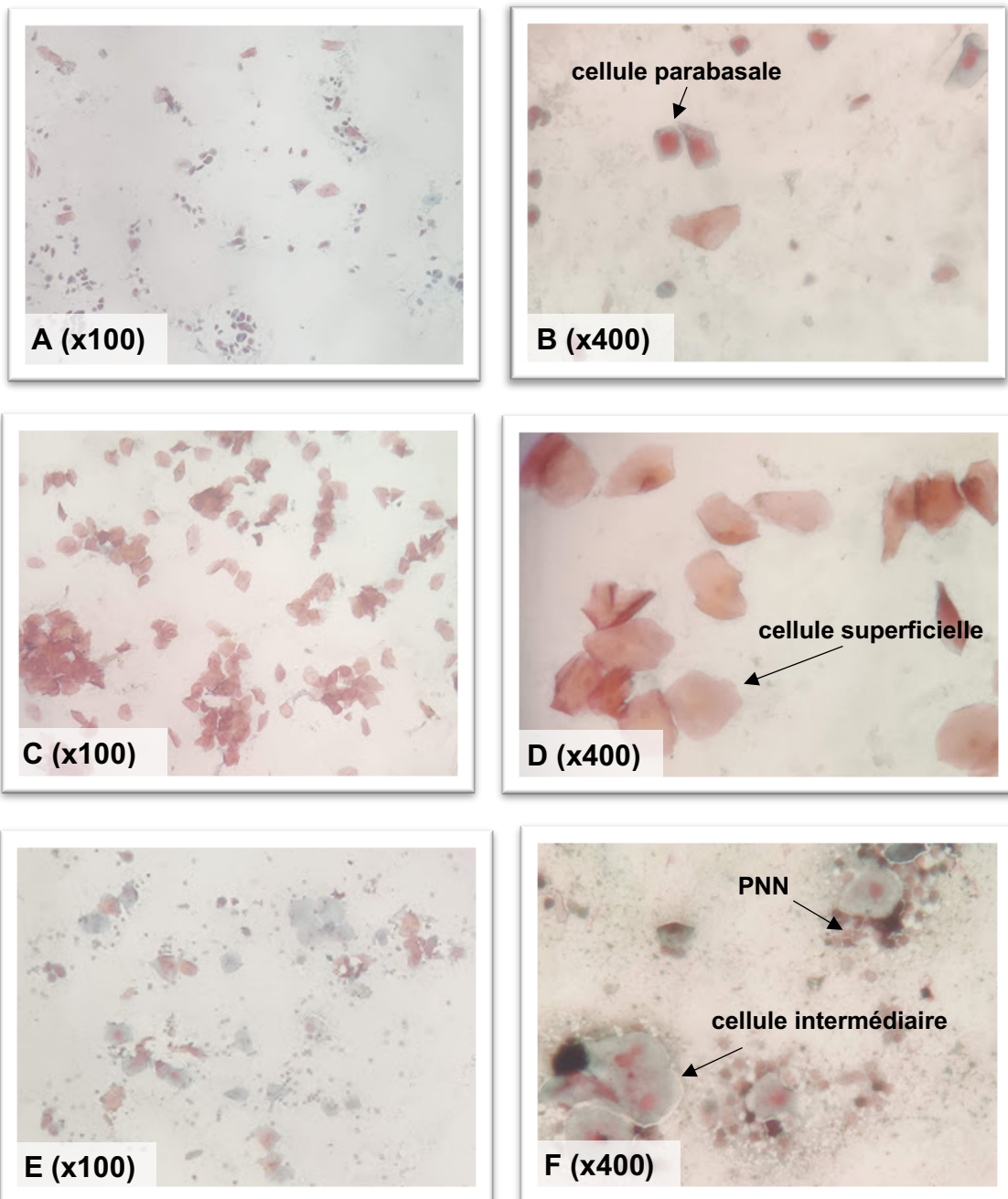
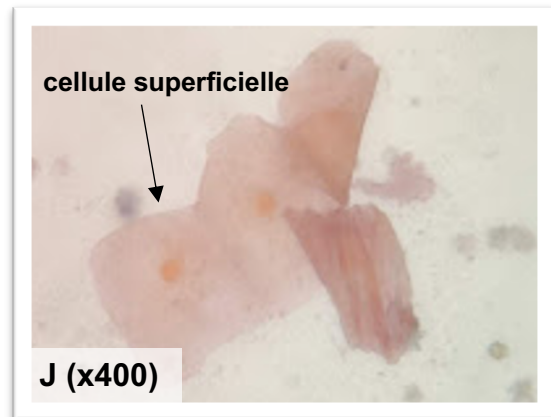
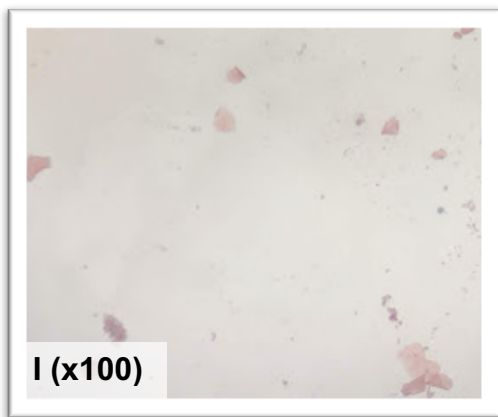
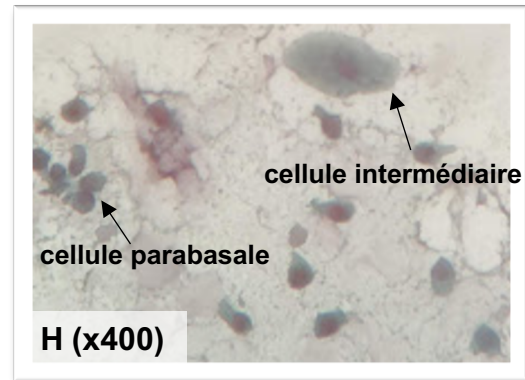
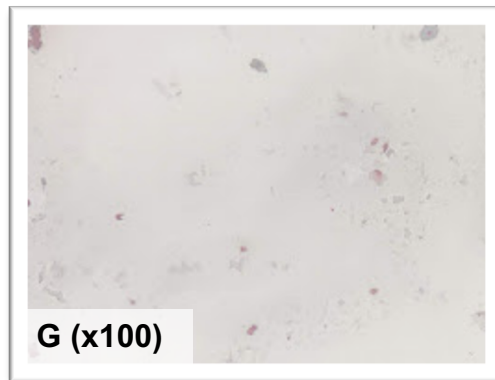


Figure 21 : Photographies des frottis de chattes observés au microscope optique (grossissements x100 et x400, coloration Diag-œstro RAL®). Interœstrus (G,H), stérilisée (I,J). Photographies personnelles.

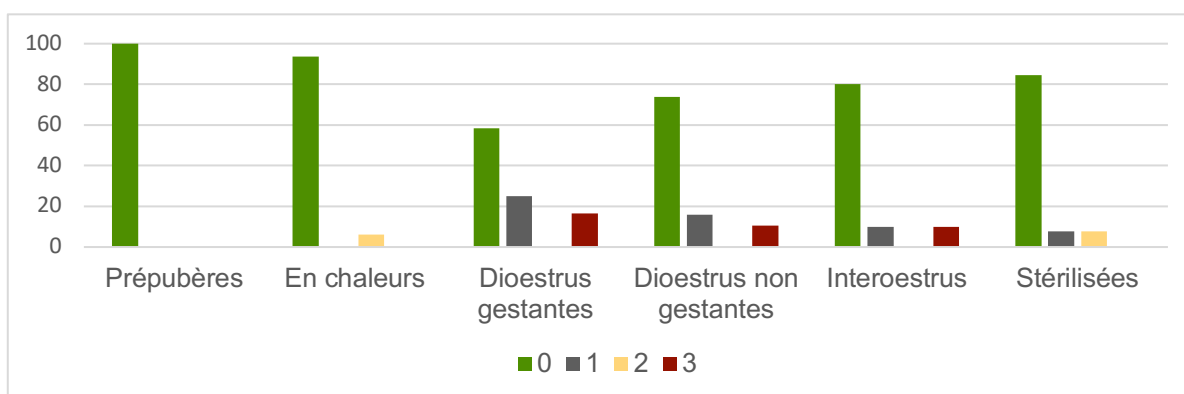


3.3. Résultats obtenus dans l'évaluation semi-quantitative de la présence des PNN et des hématies

Dans nos échantillons, la présence d'hématies a été très rare. Une quantité faible d'hématies a été observée chez une chatte en chaleurs après coloration au RAL Diff Quik™ et une quantité modérée d'hématies a été observée chez une chatte en interœstrus après coloration au Diag-œstro RAL®.

La présence de PNN était plus fréquente que la présence d'hématies. Une représentation graphique des résultats obtenus (Annexe 9,10) est présentée ci-après (Figure 22, 24).

Figure 22 : Histogramme de l'évaluation semi-quantitative de la présence de PNN (RAL Diff Quik™). Absence (0), quantité faible (1), quantité modérée (2), quantité marquée (3).



Dans nos échantillons, nous observons que :

- Les PNN sont fréquemment absents
- Il n'y en avait aucun parmi les chattes prépubères et dans les autres groupes au moins un frottis présentait *a minima* une quantité faible de PNN
- Les chattes en dioestrus gestantes ont présenté la quantité de PNN la plus importante (Figure 23).

Figure 23 : Photographie d'un frottis de chatte en dioestrus gestante observé au microscope optique, mettant en évidence la présence de PNN en quantité modérée (grossissement x100, coloration RAL Diff Quik™). Photographie personnelle.

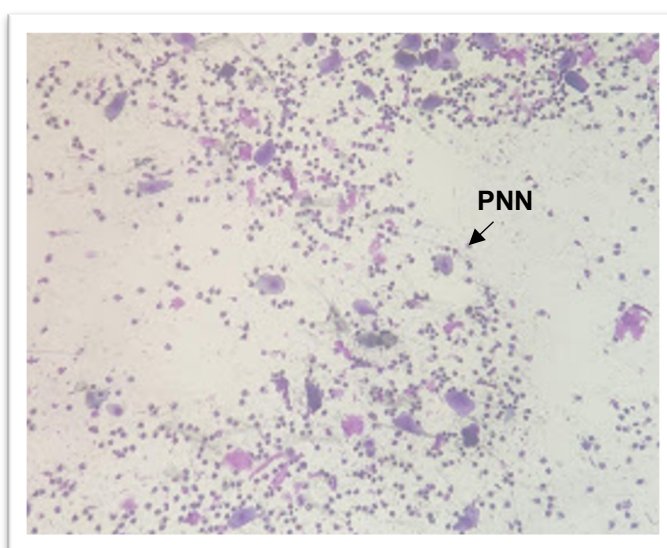
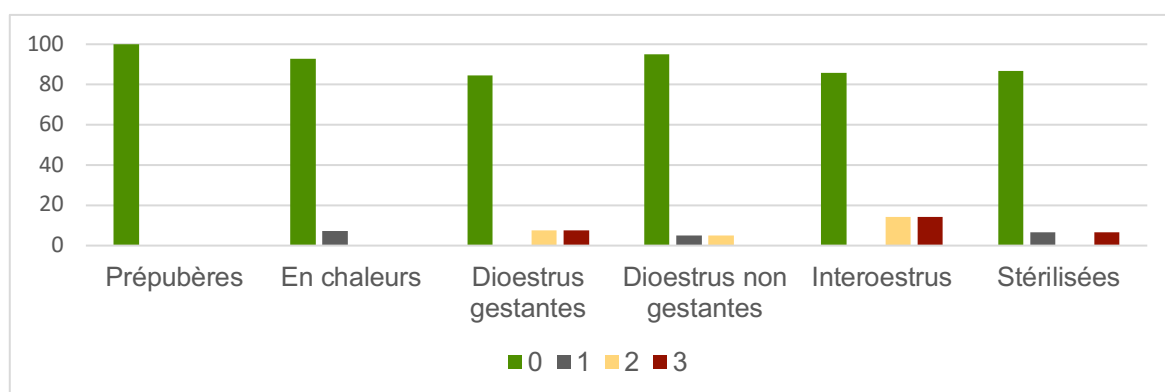


Figure 24 : Histogramme de l'évaluation semi-quantitative de la présence de PNN (Diag-œstro RAL®). Absence (0), quantité faible (1), quantité modérée (2), quantité marquée (3).



Dans nos échantillons, nous observons que :

- Les PNN sont fréquemment absents
- Il n'y en avait aucun parmi les chattes prépubères et dans les autres groupes au moins un frottis présentait *a minima* une quantité faible de PNN
- Les chattes en interœstrus ont présentées la quantité de PNN la plus importante.

Nous observons également que les PNN ont été plus fréquemment visualisés après coloration au RAL Diff Quik™ qu'après coloration au Diag-œstro RAL®.

Après avoir présenté la méthodologie adoptée pour cette étude expérimentale et les résultats obtenus, nous allons discuter de chaque élément de la partie expérimentale, à la lumière des données de la littérature.

4. Discussion

L'objectif de ce travail était de décrire les caractéristiques de la colpocytologie physiologique chez la chatte, avant la puberté, à chaque étape du cycle sexuel, lors d'une gestation et après stérilisation. Pour cela, des frottis vaginaux ont été réalisés chez les chattes recrutées au Chuv-AC réparties en 6 groupes selon leur statut sexuel. Un étalement sur deux lames pour deux colorations différentes (RAL Diff Quik™ et Diag-œstro RAL®) a été réalisé pour chaque frottis. Cent cellules épithéliales ont été identifiées et la présence d'hématies et de PNN a été évaluée semi-quantitativement sur chaque lame de frottis lue sans connaître le statut de la chatte correspondante.

4.1. Le recrutement et les résultats

À notre connaissance, il n'y a pas d'étude publiée comportant des chattes de statuts sexuels aussi divers. En particulier, il y a très peu d'études traitant de colpocytologie chez les chattes prépubères, les chattes stérilisées et les chattes en dioestrus. Une étude comporte uniquement cinq chattes stérilisées tandis que nous en avons recrutées 15 dans notre étude (Pertwi *et al.*, 2018). La fiabilité des résultats repose entre autres sur l'identification correcte du statut de chaque chatte. Quarante lames ont dû être éliminées en raison d'un défaut d'identification du statut des chattes.

4.1.1. Le groupe 1 : les chattes prépubères

L'âge moyen de la puberté chez la chatte est compris entre 4 et 12 mois (Johnston *et al.*, 2001a ; England, 2010). Nous avons donc choisi la limite de 6 mois d'âge maximum comme critère d'inclusion au groupe 1. Afin de réduire le risque d'erreur, il était également nécessaire que les propriétaires n'aient jamais observé de signes de chaleurs.

Dans nos échantillons, nous avons mis en évidence une majorité de cellules des couches profondes parmi les chattes prépubères (90% de médiane après coloration au RAL Diff Quik™ et 68% de médiane après coloration au Diag-œstro RAL®). L'absence de signes d'imprégnation œstrogénique est concordant avec l'absence d'activité sexuelle chez ces chattes et suggèrent qu'en l'absence d'une concentration sanguine en E2 élevée, l'épithélium vaginal est très faiblement kératinisé. La supériorité de la médiane obtenue après coloration au RAL Diff Quik™ reflète potentiellement la difficulté de distinguer certaines cellules intermédiaires des cellules superficielles nucléées après coloration au Diag-œstro RAL®. En effet, il n'est pas rare d'observer des cellules intermédiaires dont la polychromatophilie n'est pas représentative de leur véritable degré de différenciation, ce qui peut conduire à une erreur d'identification (Mills *et al.*, 1979 ; Malandain *et al.*, 2011). Nous n'avons pas pu comparer ces résultats avec d'autres études car à notre connaissance aucune étude comportant l'analyse de frottis vaginaux de chattes prépubères n'a été publiée.

4.1.2. Le groupe 2 : les chattes en chaleurs

Le groupe 2 était composé des chattes observées en chaleurs par leur propriétaire, selon les critères comportementaux communément admis. Cependant, il existe un risque d'erreur lié à un défaut de reconnaissance de la part des propriétaires, ainsi qu'à l'expression de chaleurs silencieuses chez certaines chattes dont la prévalence n'est pas rapportée dans la littérature. Or, il aurait été intéressant de pouvoir analyser des frottis de chattes présentant des chaleurs silencieuses pour les comparer aux frottis de chattes exprimant davantage leurs chaleurs.

De plus, il n'est pas prouvé que les critères communément admis que nous avons choisi soient suffisants pour reconnaître des chaleurs chez une chatte. Le critère d'acceptation de la saillie par le mâle utilisé par certains auteurs est un critère plus sensible (Shille *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Mattos *et al.*, 2003 ; Malandain *et al.*, 2011). Si nous avions pu mettre en œuvre l'application de ce critère dans notre étude, nous aurions potentiellement amélioré la sensibilité de notre recrutement pour ce groupe.

Il convient également de rappeler que l'expression comportementale des chaleurs est rapportée insuffisante pour le suivi précis du cycle sexuel chez la chatte. En effet, un décalage entre la croissance folliculaire, l'évolution de la concentration sérique en E2, l'évolution de la colpocytologie et l'expression comportementale des chaleurs a été identifié par plusieurs auteurs (Shille *et al.*, 1979 ; Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011). Les chattes peuvent présenter un pic de concentration en E2 un à deux jours avant de manifester des signes de chaleurs (Shille *et al.*, 1979). Un tiers des chattes recrutées par Shille *et al.* (1979) ont montré des signes de chaleurs avant l'identification claire d'une kératinisation de l'épithélium vaginal.

Dans nos échantillons, l'indice superficiel le plus élevé au sein des six groupes a été mis en évidence parmi les chattes en chaleurs, ce qui est concordant avec l'influence connue des œstrogènes sur la composition de l'épithélium vaginal. Néanmoins, un indice superficiel supérieur à 80% est rapporté dans la littérature (Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979 ; Malandain *et al.*, 2011). La médiane de l'indice superficiel obtenu après coloration au Diag-œstro RAL® est proche de ces données (73%) avec une borne supérieure de l'intervalle de confiance égale à 100%, mais la médiane de l'indice superficiel obtenu après coloration au RAL Diff Quik™ était de 43% avec une

borne supérieure de l'intervalle de confiance égale à 71%. Il semblerait que la coloration au Diag-œstro RAL® ait une meilleure sensibilité que la coloration au RAL Diff Quik™ pour la détection des chaleurs chez la chatte. Néanmoins, il ne peut être exclu que des cellules intermédiaires polychromatophiles aient été confondues avec des cellules superficielles nucléées. La kératinisation de l'épithélium vaginal chez la chatte a donc parfois semblé incomplète, ce qui pourrait s'expliquer par :

- Une amplitude de variation relative de la concentration sanguine en E2 réduite chez certains individus
- Une réceptivité cellulaire qualitative plus faible
- Une densité de récepteurs cellulaires plus faible
- Le recrutement de chattes qui n'étaient pas en chaleurs.

4.1.3. Le groupe 3 : les chattes en dioestrus gestantes

Le groupe 3 était composé des chattes en dioestrus gestantes. Elles étaient recrutées à partir d'un diagnostic de gestation positif par examen échographique, réalisé par un vétérinaire spécialisé trois semaines après la dernière saillie. La sensibilité de l'examen échographique dans le diagnostic de gestation chez la chatte est rapporté excellent. Il est donc peu probable que des chattes ait été recrutées en tant que chattes gestantes par erreur. Néanmoins, étant donné que le diagnostic de gestation était réalisé trois semaines après la dernière saillie, nous n'avons pu analyser de frottis de chatte en début de gestation.

4.1.4. Le groupe 4 : les chattes en dioestrus non gestantes

Le groupe 4 était composé des chattes en dioestrus non gestantes. Elles étaient recrutées à partir d'un diagnostic de gestation négatif par examen échographique, réalisé par un vétérinaire spécialisé trois semaines après la dernière saillie, associé à un dosage de la P4 supérieur à 1 ng/mL (permettant de ne pas faire de confusion avec les chattes en interœstrus). Les chattes étant suivies au CERCA, l'étude du dossier CLOVIS a permis de confirmer *a posteriori*, l'absence de gestation au moment de la réalisation du frottis vaginal. Les critères choisis pour ce groupe ont été précédemment validés et le risque d'erreur était faible pour ces chattes (Wildt, 1978 ; Malandain *et al.*, 2011).

Le dioestrus est la phase du cycle sexuel où la concentration sanguine en E2 est la plus basse et où la concentration sérique en P4 augmente, qu'il y ait fécondation ou non. Dans nos échantillons, les cellules des couches profondes ont été majoritaires (73 à 92% de médiane) pour les deux colorations. Il y a peu de données dans la littérature mais un taux de 100% de cellules des couches profondes est rapporté (Johnson, 2022). Shille *et al.* (1979) rapportent qu'ils n'ont pas observé de différence significative dans les proportions cellulaires entre les frottis des chattes en interœstrus et ceux des chattes pseudogestantes. Or, ils ont observé une majorité de cellules intermédiaires et de cellules superficielles nucléées parmi leurs chattes en interœstrus. D'après Mills *et al.* (1979), un frottis de chatte en dioestrus comporte essentiellement des cellules couches profondes. Ils rapportent un taux de 50% de cellules parabasales environ six jours après la fin des chaleurs. Nous en concluons que les frottis vaginaux de chattes en dioestrus peuvent être très variables. La comparaison avec les données de la littérature est d'autant plus à nuancer que nous avons réalisé les frottis vaginaux parmi des chattes qui étaient déjà à trois semaines de dioestrus.

La différence de résultats observée dans nos échantillons entre les chattes en dioestrus gestantes et les chattes en dioestrus non gestantes était faible, en particulier après coloration au RAL Diff Quik™. Le frottis vaginal n'est donc pas apparu comme une technique adaptée au

diagnostic de gestation chez la chatte, contrairement au cas des femelles guépard, chez qui l'absence de PNN serait en faveur d'une gestation (Asa *et al.*, 1992).

4.1.5. Le groupe 5 : les chattes en interœstrus

Le groupe 5 était composé des chattes en interœstrus. Le recrutement de ces chattes était basé sur l'absence de visualisation de signes de chaleurs par les propriétaires. Comme évoqué précédemment, ce premier critère est soumis à un risque d'erreur. Le second critère était une valeur de concentration sérique en P4 basale (inférieur à 1 ng/mL), afin de distinguer les chattes en interœstrus des chattes en diœstrus non gestantes. Ces chattes étant également suivies au CERCA, l'étude du dossier CLOVIS a permis de confirmer leur statut *a posteriori* pour la majorité d'entre elles, en particulier lorsqu'un retour en chaleurs sous une dizaine de jours était rapporté.

Entre deux vagues folliculaires non ovulatoires, la chatte est en interœstrus, phase du cycle sexuel où la concentration sanguine en E2 diminue. Dans nos échantillons, la médiane de l'indice superficiel parmi les chattes en interœstrus était inférieure à la médiane de l'indice superficiel parmi les chattes en chaleurs, pour les deux colorations. Néanmoins, si certaines études rapportent un indice superficiel inférieur à 50% (Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979 ; Johnson, 2022), une étude rapporte un taux de 84% (Kanca *et al.*, 2014).

Ces différences peuvent s'expliquer par :

- La variabilité de la durée de l'interœstrus, associée à la possibilité que les cellules squameuses n'aient pas eu le temps d'être éliminées
- Une amplitude de variation de la concentration sanguine en E2 plus faible que les autres pendant l'alternance des phases d'œstrus et d'interœstrus, à l'origine de modifications plus discrètes de la composition de l'épithélium vaginal
- L'existence de chaleurs « silencieuses » qui peuvent conduire à une confusion dans l'identification de la phase du cycle.

De façon inattendue, la médiane de l'indice superficiel a été plus élevée après coloration au RAL Diff Quik™ (19,5%) qu'après coloration au Diag-œstro RAL® (8,5%). Nous pouvons émettre l'hypothèse que certaines cellules intermédiaires particulièrement grandes et anguleuses aient pu être confondues avec des cellules superficielles nucléées, ce qui aurait conduit à une surestimation de l'indice superficiel, après coloration au RAL Diff Quik™. Nous ne pouvons pas non plus exclure que des cellules superficielles nucléées polychromatophiles à dominante basophile ait été confondues avec des cellules intermédiaires après coloration au Diag-œstro RAL®.

4.1.6. Le groupe 6 : les chattes stérilisées

Le groupe 6 était composé des chattes stérilisées depuis plus de deux ans et n'ayant pas exprimé de chaleurs depuis, d'après les propriétaires. La valeur limite de deux ans a été établie arbitrairement, en supposant qu'elle permettrait d'écarter le risque de recruter des chattes présentant un syndrome de rémanence ovarienne non identifié. Cependant, comme évoqué précédemment, l'observation des propriétaires présentent une sensibilité et une spécificité variables et il ne peut être exclu que certaines chattes classées dans le groupe 6 présentaient un syndrome de rémanence ovarienne.

La concentration sanguine en E2 des chattes stérilisées est théoriquement proche de zéro. Ainsi, nous aurions pensé que l'épithélium vaginal de ces chattes soit faiblement kératinisé et que l'indice superficiel soit faible, comme chez les chattes prépubères. Il y a très peu de données sur la colpocytologie des femelles stérilisées dans la littérature. Une étude rapporte un indice superficiel de 11,2% parmi 5 chattes stérilisées (Pertwi *et al.*, 2018). Or, dans nos échantillons, les chattes

stérilisées ont présenté des médianes d'indices superficiels plus élevées que les chattes des autres groupes, en dehors des chattes en chaleurs : 34% après coloration au RAL Diff Quik™ et 25% après coloration au Diag-œstro RAL® avec des bornes supérieures d'intervalles de confiance supérieures à 70%.

Plusieurs hypothèses peuvent participer à expliquer ces résultats :

- Un défaut de reconnaissance des cellules épithéliales au frottis
- L'existence d'une autre source de kératinisation de l'épithélium vaginal que l'E2
- L'existence d'une autre source de synthèse d'E2 que les ovaires, comme les glandes surrénales, bien que les chattes stérilisées recrutées par Shille *et al.* (1979) aient présentés des taux d'E2 basaux
- De potentielles syndromes de rémanence ovarienne non détectés, qui pourraient être recherchés à l'aide d'un examen échographique associé à un dosage de la concentration sérique en E2, en hormone anti-Müllérienne ou en progestérone après une tentative d'induction d'une ovulation (England, 1997 ; Axner *et al.*, 2008 ; Rohlert *et al.*, 2012 ; Binder *et al.*, 2019).

4.1.7. L'observation des cellules sanguines et des éléments exogènes

Les hématies ont été observées de manière exceptionnelle et ne sont quasiment pas rapportées dans la littérature chez la chatte. Une quantité faible d'hématies a été observée chez une seule chatte en chaleurs après coloration au RAL Diff Quik™ et une quantité modérée d'hématies a été observée chez une seule chatte en interœstrus après coloration au Diag-œstro RAL®. Mills *et al.* (1979) rapportent l'observation d'hématies sur les frottis vaginaux de deux chattes chez qui la présence d'une vaginite bactérienne a été mise en évidence par culture bactériologique à partir de l'écouvillon utilisé pour la réalisation du frottis. Nous notons que les bactéries n'avaient pas été visualisées préalablement sur les frottis. Nous ne pouvons donc pas exclure que les chattes qui ont présentées ces quelques hématies sur leur frottis ne présentaient pas d'affection de l'appareil urogénital.

Parmi les chattes en chaleurs, les PNN ont été rarement observés, ce qui est concordant avec les résultats obtenus dans la littérature : quelques PNN en fin de phase folliculaire (Shille *et al.*, 1979), de rares PNN pendant la fin de l'œstrus (Mills *et al.*, 1979) et quelques PNN en fin d'œstrus (Malandain *et al.*, 2011) sont rapportés.

Deux chattes sur 14 (Diag-œstro RAL®) et une chatte sur dix (RAL Diff Quik™) ont présenté une quantité marquée de PNN en interœstrus et deux chattes sur dix (RAL Diff Quik™) ont présenté une quantité modérée de PNN en interœstrus. Or, un seul auteur suggère qu'il y aurait des PNN en début d'interœstrus (Johnson, 2022). Ces résultats posent donc la question d'un potentiel défaut de classement de ces chattes puisque la présence de PNN a été observée pendant l'œstrus dans notre étude et dans la littérature.

Dix chattes sur 31 (RAL Diff Quik™) et quatre chattes sur 33 (Diag-œstro RAL®) ont présenté des PNN en diœstrus. Ce sont les chattes en diœstrus qui ont présenté la quantité la plus importante de PNN. Ce résultat est concordant avec les études menées chez la chatte (Mills *et al.*, 1979). Il est également concordant avec les études menées chez les félins sauvages. En effet, une imprégnation marquée en PNN durant la pseudogestation a été mise en évidence chez la femelle guépard (Asa *et al.*, 1992), une quantité plus modérée de PNN a été mise en évidence chez la lionne en diœstrus (Callealta *et al.*, 2020). L'afflux de PNN en diœstrus pourrait s'expliquer par l'inflammation qui accompagne l'ovulation.

4.1.8. L'analyse statistique

Étant donné le nombre de variables incluses dans l'étude, l'utilisation d'un test multiple permettant de rechercher des différences significatives invitant à étendre nos résultats à la population féline générale n'était pas envisageable du fait de la taille réduite de nos échantillons. Les médianes et leur intervalle de confiance à 95% ont donc été calculés.

Pour les deux colorations, les intervalles de confiance étaient particulièrement larges pour le comptage des cellules parabasales. Ce résultat montre qu'il existe une forte variabilité dans le nombre de cellules des couches profondes entre les chattes ou bien la reconnaissance de ces cellules n'est pas bonne.

Après coloration au Diag-œstro RAL®, les intervalles de confiance étaient plus resserrés pour le comptage des cellules superficielles nucléées et anucléées. Ce résultat montre qu'il existe une faible variabilité dans le nombre de cellules superficielles entre les chattes ou bien que la reconnaissance de ces cellules est meilleure.

Après coloration au RAL Diff Quik™, les intervalles de confiance étaient plus resserrés pour le comptage des cellules superficielles anucléées.

De manière générale, les intervalles de confiance obtenus peuvent être considérés comme larges à très larges, soulevant la possibilité d'erreurs d'identification de groupe des chattes, l'existence d'une variabilité individuelle ou une technique de lecture des frottis non adaptée. La taille des échantillons est un autre facteur qui peut également influencer la largeur des intervalles de confiance.

4.2. Le protocole

4.2.1. La réalisation des frottis vaginaux

Les frottis vaginaux ont été réalisés de manière conventionnelle à l'aide d'un écouvillon de faible diamètre humidifié de sérum physiologique. Seul un groupe d'auteurs mentionne l'utilisation d'une tige en verre pour la réalisation du frottis, avec des résultats rapportés satisfaisants (Mills *et al.*, 1979). Trois personnes ont été impliquées dans la réalisation des frottis vaginaux, avec la même technique. Nous pouvons donc faire l'hypothèse que l'opérateur n'a pas eu d'impact sur la qualité du frottis.

Étant donnée l'anatomie de l'appareil génital de la chatte, les frottis vaginaux que nous réalisons sont plus probablement des frottis vestibulaires. La muqueuse du vestibule étant en contact avec l'urine lors des mictions, nous pouvons émettre l'hypothèse que cette muqueuse puisse être protégée par la kératinisation de cellules épithéliales, ce qui permettrait d'expliquer que les frottis vaginaux réalisés parmi les chattes stérilisées aient pu parfois être fortement kératinisés. Cela suggère également l'existence d'une autre source que l'E2 pour la kératinisation de l'épithélium vaginal.

4.2.2. Les colorations et la lecture

Les colorations choisies ont été la version en kit rapide de la coloration MGG, coloration standard en cytologie vétérinaire, et la version en kit rapide de la coloration de HS, coloration plus spécifiquement employée dans le domaine de la reproduction des carnivores domestiques. L'utilisation du kit Diag-œstro RAL® a été validée chez la chienne mais pas chez la chatte, nous ne pouvons donc pas affirmer que le kit de coloration rapide est équivalent à la coloration « complète » de HS chez la chatte (Dutey, 2015). La comparaison de nos résultats obtenus avec ce kit avec les

résultats obtenus dans la littérature avec la coloration de HS ou la coloration de Papanicolaou est donc à nuancer. Les cellules épithéliales ont été classées en cellules parabasales, cellules intermédiaires, cellules superficielles nucléées et cellules superficielles anucléées, à partir des données de la littérature canine et féline (Schutte, 1967a ; Shille *et al.*, 1979 ; Mills *et al.*, 1979). Cependant, les classifications définies par les auteurs ne sont pas identiques d'une étude à l'autre. Certains auteurs ne font pas de distinction entre les cellules superficielles nucléées et les cellules superficielles anucléées (Mills *et al.*, 1979 ; Pertiwi *et al.*, 2018), d'autres comptent les grandes cellules intermédiaire comme des cellules superficielles par exemple (Froment, 2002 ; Malandain *et al.*, 2011).

Nous avons choisi de compter 100 cellules épithéliales comme la plupart des auteurs. Mais certains en ont comptés 200 (Mattos *et al.*, 2003), d'autres 50 (Kanca *et al.*, 2014) voire 30 (Luc, 2005). Aucune preuve n'a été démontrée concernant le nombre adéquat de cellules à compter pour évaluer précisément un frottis vaginal.

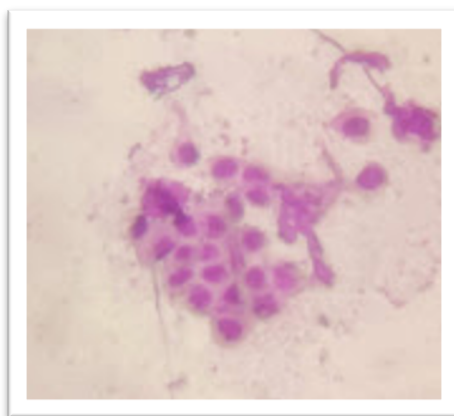
La présence de cellules sanguines était évaluée à partir de la zone de lecture choisie pour le comptage des cellules épithéliales mais il ne pouvait pas être garantie que la zone était également représentative du point de vue des cellules sanguines.

La coloration au RAL Diff Quik™ présente l'avantage d'être rapide à utiliser et d'être fréquemment disponible dans les cliniques vétérinaires généralistes pour animaux de compagnie. La reconnaissance des cellules épithéliales repose essentiellement sur leur taille et leur forme. Le kit Diag-œstro RAL®, également rapide à utiliser, présente donc l'avantage d'ajouter un critère supplémentaire pour l'identification des cellules : la couleur. Dans nos échantillons, il semblerait que la coloration au RAL Diff Quik™ ait été plus performante pour la reconnaissance des cellules des couches profondes tandis que la coloration au Diag-œstro RAL® ait été plus performante pour la reconnaissance des cellules superficielles. Néanmoins, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'avec la coloration au RAL Diff Quik™ certaines grandes cellules intermédiaires peuvent être confondues avec des cellules superficielles nucléées. De même, nous pouvons émettre l'hypothèse que le degré de kératinisation de l'épithélium est parfois surestimé par la coloration au Diag-œstro RAL®.

La coloration au RAL Diff Quik™ permet de mieux reconnaître les PNN. Néanmoins, dans nos échantillons, les PNN ont été identifiés parmi 15 frottis colorés au RAL Diff Quik™ et parmi 11 frottis colorés au Diag-œstro RAL®. Dans notre étude, les deux colorations ont permis l'identification des PNN dans des proportions comparables avec une discrète supériorité du kit RAL Diff Quik™. Plusieurs limites à l'interprétation des frottis vaginaux ont été mises en évidence par nos résultats. Dans un premier temps, une limite physiologique peut être évoquée. L'évolution de la composition de l'épithélium vaginal est un continuum, il y a donc fondamentalement une part subjective dans l'identification des cellules. En particulier, la différence entre les cellules intermédiaires et les cellules superficielles nucléées peut être ténue, aussi bien après coloration au RAL Diff Quik™ qu'après coloration au Diag-œstro RAL®. Or, cette confusion peut conduire à surestimer ou à sous-estimer l'indice superficiel. La mesure précise de la taille des cellules et de leurs noyaux a été réalisée à l'aide de logiciels mais l'utilisation pratique de ces données est limitée (Kanca *et al.*, 2014 ; Callealta *et al.*, 2020).

Le comptage des cellules parabasales peut être interrogé car ces cellules sont fréquemment présentées en groupes de trois à une dizaine de cellules (Figure 25). Un système différent de comptage de ces cellules pourrait être plus adapté à la réalité des frottis vaginaux, en considérant par exemple le nombre de groupes pour une cellule intermédiaire visualisée.

Figure 25 : Illustration du regroupement des cellules parabasales observé au microscope optique (grossissement x100, coloration RAL Diff Quik™). Photographie personnelle.



4.2.3. La reproductibilité

La variabilité intra- et inter-techniciens dans la classification des cellules épithéliales et l'interprétation globale des frottis vaginaux a été évaluée dans une étude, chez la chienne, avec un technicien expérimenté et trois techniciens inexpérimentés au sein d'un même laboratoire et un envoi des frottis à quatre laboratoires extérieurs pour interprétation (Moxon *et al.*, 2010). Cette variabilité s'est révélée faible pour le technicien expérimenté mais non négligeable parmi les techniciens inexpérimentés et entre les laboratoires extérieurs. Ainsi, bien que la colpocytologie soit bien décrite dans l'espèce canine, il existe une variabilité liée au lecteur du frottis, aussi bien dans la classification des cellules que dans l'identification subjective de la phase du cycle, qui semble importante (Moxon *et al.*, 2010). Notons que la variabilité liée à l'interprétation d'une série de frottis appartenant à la même chienne n'a pas été comparée à la variabilité liée à l'interprétation d'un frottis unique.

Les hypothèses quant aux sources de cette variabilité sont nombreuses. Comme évoqué précédemment, la classification des cellules présente une part non négligeable de subjectivité malgré la richesse documentaire sur le sujet. De plus, le choix de la zone de lecture du frottis est également subjectif et il est possible qu'il ait un impact sur l'interprétation des frottis, en particulier lorsqu'on choisit de compter 100 cellules sur une lame en comportant des milliers. Dans notre étude, nous avons défini la zone de lecture comme étant une zone du frottis reflétant les proportions relatives des différents types cellulaires de l'ensemble de la lame et permettant d'identifier chaque cellule grâce à un espacement suffisant. Il est attendu cependant, que d'une lecture à un autre, les zones de lecture choisies puissent varier et donner lieu à des proportions cellulaires différentes. D'autant plus que le choix de cette zone peut se révéler particulièrement chronophage. Anne Luc a choisie dans sa thèse de lire les frottis en « queue », là où les cellules formaient moins d'amas. Lorsque les cellules formaient trop d'amas ou que la coloration portait à confusion, les cellules étaient observées au grossissement x1000. Dans notre expérience, nous n'avons pas mis en évidence de zone où les cellules formaient spécifiquement moins d'amas. De plus, nous avons fait le choix de ne pas passer au grossissement x1000 car il nécessite l'utilisation d'huile à immersion et il est prévu que les lames de frottis soient relues.

Nos résultats montrent également que le type de coloration choisi est probablement à l'origine de variations d'interprétation des frottis vaginaux, voire de potentielles erreurs. Il est donc prévu que les lames de frottis obtenues au cours de notre étude soient également prochainement lues en aveugle par un vétérinaire expérimenté, avec la même grille de lecture, afin de comparer les

résultats obtenus. Il se pose toutefois la question du nombre optimal de relectures qui permettrait d'aboutir à des résultats les plus fiables possibles.

En andrologie et en gynécologie humaine, la mise en place de contrôles qualité dans les laboratoires a permis de réduire cette variabilité et d'améliorer la fiabilité des résultats obtenus. Les personnels suivent régulièrement des formations, des grilles de lecture détaillées sont mises à disposition, une relecture rapide par le même technicien ou la relecture par un pair sont programmées, la comparaison de résultats obtenus manuellement et de résultats obtenus par traitement informatique est un autre outil parfois utilisé (Clements *et al.*, 1995 ; Baker *et al.*, 1995 ; Michelmann, 1997). En colpocytologie féline, la lecture de plusieurs frottis appartenant au même animal par le même technicien devrait, par exemple, présenter un intérêt, afin d'apprécier au mieux les variabilités individuelles. De même, la comparaison régulière des lectures entre techniciens devrait participer à une homogénéisation des interprétations.

4.3. Les perspectives de l'étude

Étant donné le nombre de variables choisis, il était inenvisageable de mettre en évidence des différences significatives à l'aide d'un test multiple invitant à faire de l'inférence à une population plus large. Néanmoins, cette première étude a permis la description de tendances qui n'avaient pas été décrites auparavant et qui permettront de construire de nouvelles études ciblant les hypothèses nouvellement soulevées.

Les résultats obtenus parmi les chattes stérilisées étaient particulièrement surprenants étant donné que ces chattes ne sont pas cyclées et présentent donc théoriquement une concentration sanguine en E2 proche de zéro qui devrait être à l'origine d'une faible kératinisation de l'épithélium vaginal. La construction d'une nouvelle étude comparative pourrait préciser les connaissances sur les frottis vaginaux de ces chattes. De même, réitérer une étude comparant l'analyse de frottis parmi des chattes en œstrus et des chattes en interœstrus, en considérant uniquement la variable de l'indice superficiel avec un effectif élevé de chattes, pourrait donner de nouveaux éclairages quant aux évolutions de l'épithélium vaginal chez ces chattes.

La description des caractéristiques de l'évolution physiologique de la colpocytologie chez la chatte invite également à construire une étude recrutant des chattes présentant des signes d'affection de l'appareil uro-génital ou des signes de rémanence ovarienne afin de rechercher des critères permettant d'aider au diagnostic de ces affections.

Construire une cohorte de chattes dans l'optique de suivre individuellement l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel pourrait avoir un intérêt dans la mise en évidence d'une variabilité individuelle, comme il a été démontré chez la chienne (Christie *et al.*, 1972). Cela permettrait également d'homogénéiser la détection des chaleurs en réduisant le nombre d'observateurs, qui seront aussi plus avertis que les propriétaires.

Enfin, il se pose la question de la fiabilité de l'utilisation unique du frottis vaginal pour l'identification de la phase du cycle sexuel chez la chatte. La réalisation d'autres examens complémentaires, comme le dosage de la concentration sanguine en E2 ou la réalisation d'échographies ovariennes pourraient être plus indiqués. Nous pouvons émettre l'hypothèse que la réalisation conjointe de ces examens puissent être intéressantes. Néanmoins, ils s'accompagnent d'un coût financier non négligeable et ils peuvent nécessiter la sédation des animaux.

Conclusion

L'objectif de cette thèse était de décrire les caractéristiques de la colpocytologie physiologique chez la chatte, avant la puberté, à chaque étape du cycle sexuel, lors d'une gestation et après stérilisation.

Nous avons mis en évidence : une majorité de cellules parabasales et intermédiaires parmi les chattes prépubères, les chattes en dioestrus et les chattes en interœstrus, une majorité de cellules superficielles parmi les chattes en chaleurs, une proportion importante de cellules superficielles parmi les chattes stérilisées par rapport aux chattes des autres groupes, une quasi-absence d'hématies et la présence ponctuelle de PNN parmi les chattes en dioestrus, les chattes en chaleurs et les chattes en interœstrus.

Néanmoins, notre objectif est partiellement atteint car des erreurs d'identification du statut des chattes ne peuvent être exclues, les lames de frottis n'ont été lues que par un seul lecteur et la méthode de lecture n'est pas validée de manière consensuelle.

Les colorations ont donné des résultats différents, suggérant que le Diag-œstro RAL® était plus adapté à l'étude du cycle œstral et pour l'étude des frottis de chattes stérilisées et que le RAL Diff Quik™ était plus utile en dehors des chaleurs. Nous en concluons que la réalisation systématique des deux colorations présente un intérêt dans le suivi du cycle sexuel chez la chatte.

De nombreuses perspectives sont donc envisageables à partir de ce travail, la lecture des lames en aveugle par un vétérinaire expérimenté est déjà prévue mais il serait également intéressant que soit menée une étude ciblant les différences observées dans nos échantillons que les données de la littérature ne permettent pas d'expliquer. Il serait également intéressant que soient menées une étude recrutant des chattes présentant des signes de rémanence ovarienne, une étude recrutant des chattes présentant des signes d'affections de l'appareil uro-génitale, ainsi qu'une étude comparant les résultats de colpocytologie au dosage d'E2 et aux images d'échographies ovariennes. Enfin, la construction d'un guide pratique à destination des vétérinaires, en situation physiologique et en situation pathologique, pourrait être utile.

Liste des références bibliographiques

- ASA C.S., JUNGE R.E., BIRCHER J.S., *et al.* (1992) Assessing reproductive cycles and pregnancy in cheetahs (*Acinonyx jubatus*) by vaginal cytology. *Zoo Biology* 11(3), 139-151
- AXNÉR E., GUSTAVSSON T., STRÖM HOLST B. (2008) Estradiol measurement after GnRH-stimulation as a method to diagnose the presence of ovaries in the female domestic cat. *Theriogenology* 70(2), 186-191
- BAKER A., MELCHER D., SMITH R. (1995) Role of re-screening of cervical smears in internal quality control. *Journal of Clinical Pathology* 48(11), 1002-1004
- BINDER C., AURICH C., REIFINGER M., AURICH J. (2019) Spontaneous ovulation in cats—Uterine findings and correlations with animal weight and age. *Animal Reproduction Science* 209, 1-9
- BONNEY R.C., MOORE H.D.M., JONES D.M. (1981) Plasma concentrations of oestradiol-17 β and progesterone, and laparoscopic observations of the ovary in the puma (*Felis concolor*) during oestrus, pseudopregnancy and pregnancy. *Journals of Reproduction & Fertility Ltd* n°63, 523-531
- CALLEALTA I., GANSWINDT A., LUEDERS I. (2020) Reproductive cycle stage assessment using vaginal cytology evaluation in African lions (*Panthera leo*). *Animal Reproduction Science* 213, 1-10
- CHRISTIE D.W., BAILEY J.B., BELL E.T. (1972) Classification of Cell Types in Vaginal Smears During the Canine Oestrous Cycle. *British Veterinary Journal* 128(6), 301-310
- CLEMENTS S., COOKE I.D., BARRATT C.L.R. (1995) Implementing comprehensive quality control in the andrology laboratory. *Human Reproduction* 10(8), 2096-20106
- CROUCH J.E. (1969) Text-atlas of cat anatomy. Philadelphia, Lea & Febiger
- DA SILVA T.F.P., DA SILVA L.D.M., UCHOA D.C., MONTEIRO C.L.B., THOMAZ L. de A. (2006) Sexual characteristics of domestic queens kept in a natural equatorial photoperiod. *Theriogenology* 66(6-7), 1476-1481
- DE CAMARGO L.S., RIZZOTO G., DE CARVALHO J.C., *et al.* (2021) Ovarian and Oocyte Morphology During the Spring-Summer and Fall-Winter in Queens (*Felis catus*) Kept in a Tropical Climate. *Topics in Companion Animal Medicine* 43, 1-3
- DEROUIN-TOCHON F., BELTRAMO M., DECOURT C., *et al.* (2019) L'ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales* 32(3), 445-460
- DUTEY A.-L. (2015) La coloration des frottis vaginaux chez la chienne : Étude de l'efficacité d'un nouveau protocole de Harris Shorr simplifié. Thèse de Médecine Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort
- ENGLAND G.C.W. (1997) Confirmation of ovarian remnant syndrome in the queen using hCG administration. *Veterinary Record* 141(12), 309-310
- ENGLAND G.C.W. (2010) Physiology and endocrinology of the female. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*, 2^e ed. Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association, pp 1-12
- ENGLAND G.C.W., LEVY X. (2010) Pregnancy diagnosis, normal pregnancy and parturition in the queen. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*, 2^e ed. Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association, pp 98-105
- FAYA M., CARRANZA A., PRIOTTO M., *et al.* (2011) Domestic queens under natural temperate photoperiod do not manifest seasonal anestrus. *Animal Reproduction Science* 129(1-2), 78-81
- FROMENT E. (2002) Contribution à l'étude du cycle œstral chez la chatte : suivi échographique, colpocytologique et endocrinien. Thèse de Médecine Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- JOHNSON A.K. (2022) Normal feline reproduction: The queen. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 24(3), 204-211
- JOHNSTON S.D., ROOT KUSTRITZ M.V., OLSON P.N.S. (2001a) The Feline Estrous Cycle. In *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia, W. B. Saunders Company, pp 396-405

- JOHNSTON S.D., ROOT KUSTRITZ M.V., OLSON P.N.S. (2001b) Feline pregnancy. *In Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia, Pennsylvania 19106, W. B. Saunders Company, pp 414-430
- KANCA H., KARAKAS K., DALGIC M., SALAR S., IZGUR H. (2014) Vaginal cytology after induction of ovulation in the queen: comparison of postoestrus and dioestrus. *Australian Veterinary Journal* 92(3), 65-70
- KIRBERGER R.M., SCHULMAN M.L., HARTMAN M.J. (2011) Ultrasonographic and laparoscopic evaluation of the reproductive tract of the captive female African lion (*Panthera leo*). *Theriogenology* 76(5), 810-818
- KUSTRITZ M.V.R. (2020) Vaginal Cytology in the Bitch and Queen. *In Veterinary Cytology*. Hoboken, Wiley, pp 552-558
- LUC A. (2005) Intérêt de l'interprétation des frottis vaginaux chez la chienne en début de proestrus lors du suivi de chaleurs : Étude expérimentale. Thèse de Médecine Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort
- MALANDAIN E., RAULT D., FROMENT E., *et al.* (2011) Follicular growth monitoring in the female cat during estrus. *Theriogenology* 76(7), 1337-1346
- MATTOS M.R.F., SIMÕES-MATTOS L., DANIEL MACHADO DA SILVA L. (2003) Vaginal cytology in queens with estrus induced with equine chorionic gonadotrophin. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias* 98(547), 135-138
- MICHELMANN H.W. (1997) Quality management in the andrology laboratory. *International Journal of Andrology* 20, 50-54
- MILLS J.N., VALLI V.E., LUMSDEN J.H. (1979) Cyclical Changes of Vaginal Cytology in the Cat. *Can. vet. J.* n°20, 95-101
- MOREIRA N., MONTEIRO-FILHO E.L.A., MORAES W., *et al.* (2001) Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biology* 20(2), 103-116
- MOXON R., COPLEY D., ENGLAND G.C.W. (2010) Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study. *Theriogenology* 74(3), 479-485
- PAINER J., JEWGENOW K., DEHNHARD M., *et al.* (2014) Physiologically Persistent Corpora lutea in Eurasian Lynx (*Lynx lynx*) – Longitudinal Ultrasound and Endocrine Examinations Intra-Vitam. *PLoS ONE* 9(3), e90469
- PERTIWI A.P., TUMBELAKA L.I.T.A., ULUM M.F. (2018) Ultrasonographic and vaginal cytological diagnostics of the Queen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 23(3), 130-142
- ROHLERTZ M., STRÖM HOLST B., AXNÉR E. (2012) Comparison of the GnRH-stimulation test and a semiquantitative quick test for LH to diagnose presence of ovaries in the female domestic cat. *Theriogenology* 78(9), 1901-1906
- ROOT KUSTRITZ M.V.R., JOHNSTON S.D., OLSON P.N.S. (1995) Estrous length, pregnancy rate, gestation and parturition lengths, litter size, and juvenile mortality in the domestic cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 31(5), 429-433
- SCHUTTE A.P. (1967a) Canine Vaginal Cytology—I Technique and Cytological Morphology. *Journal of Small Animal Practice* 8(6), 301-306
- SCHUTTE A.P. (1967b) Canine Vaginal Cytology—III Compilation and Evaluation of Cellular Indices. *Journal of Small Animal Practice* 8(6), 313-317
- SHILLE V.M., LUNDSTRÖM K.E., STABENFELDT G.H. (1979) Follicular Function in the Domestic Cat as Determined by Estradiol-17B Concentrations in Plasma- Relation to Estrous Behavior and Cornification of Exfoliated Vaginal Epithelium. *Biology of Reproduction* 21(4), 953-963
- SIEMIENIUCH M.J., JURZA E., SZOSTEK A.Z., *et al.* (2012) Steroidogenic capacity of the placenta as a supplemental source of progesterone during pregnancy in domestic cats. *Reproductive Biology and Endocrinology* 10(89), 1-10
- SWANSON W.F. (1994) Transcervical embryo transfer in the domestic cat. *Laboratory Animal Science* 44, 288-291
- TIRET L. (2018a) Cycle sexuel de la chienne et de la chatte. Travail dirigé. Ecole Nationale Vétérinaire

d'Alfort, Unité pédagogique de la Connaissance et de la Maîtrise de la Reproduction. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

TIRET L. (2018b) Acteurs des régulations gonadiques et cycles. Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de la Connaissance et de la Maîtrise de la Reproduction.

TOPIE E., BENCHARIF D., BRIAND L., TAINTURIER D. (2015) Early pregnancy diagnosis and monitoring in the queen using ultrasonography with a 12.5 MHz probe. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17(2), 87-93

WILDT D. (1978) Ovarian and behavioral cyclicity of the laboratory maintained cat. *Hormones and Behavior* 10(3), 251-257

WILDT D.E., CHAN S.Y.W., SEAGER S.W.J., CHAKRABORTY P.K. (1981) Ovarian Activity, Circulating Hormones, and Sexual Behavior in the Cat. I. Relationships During the Coitus-Induced Luteal Phase and the Estrous Period Without Mating. *Biology of Reproduction* 25(1), 15-28

WILDT D.E. (1991) Fertilization in Cats. In *A Comparative Overview of Mammalian Fertilization.*, Bonnie S. Dunbar and Michael G. O'Rand. ed. New York, Plenum Press, pp 299-328

ZAMBELLI D., CANEPPELE B., BASSI S., PALADINI C. (2002) Ultrasound Aspects of Fetal and Extrafetal Structures in Pregnant Cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 4(2), 95-106

ZAMBELLI D., CUNTO M. (2005) Vaginal and cervical modifications during the estrus cycle in the domestic cat. *Theriogenology* 64(3), 679-684

Annexe 1 : Fiches explicatives à destination des propriétaires



FICHE EXPLICATIVE

“Le frottis vaginal chez la chatte : étude de l’impact du cycle sexuel et de la gestation”

Introduction:

- L’analyse du frottis vaginal est courante dans le **suivi du cycle sexuel** chez la chienne. Il permet d’aider à déterminer le moment opportun pour réaliser une saillie et également d’explorer les affections de l’appareil génital le cas échéant.
- Chez la chatte, on ne dispose que de **peu d’études** définissant les modifications physiologiques de l’appareil génital sous l’influence des hormones sexuelles observables au frottis vaginal.
- Les études récentes réalisées chez la femelle guépard et la lionne ont mis en évidence des **variations interspécifiques** importantes au sein de la famille des Félines, d’où l’importance de s’intéresser aux spécificités propres de chaque espèce.

Objectifs de l’étude:

- Démontrer l’intérêt de la réalisation et de l’analyse du frottis vaginal chez la chatte dans le suivi du **cycle sexuel** afin d’aider à la **maîtrise de la reproduction**.
- Mettre en évidence des **critères statistiquement différenciant** permettant une mise en application aisée par les vétérinaires.

Description du protocole:

- Les cellules vaginales sont récupérées grâce à l’introduction d’un **écouvillon humidifié** dans le vagin de la chatte. La manœuvre de prélèvement dure **quelques secondes**. Le geste est **peu invasif, non douloureux** et ne nécessite **ni contention franche ni sédation**.

FICHE EXPLICATIVE

“Le frottis vaginal chez la chatte : étude de l’impact du cycle sexuel et de la gestation”

Introduction:

- L’analyse du frottis vaginal est courante dans le **suivi du cycle sexuel** chez la chienne. Il permet d’aider à déterminer le moment opportun pour réaliser une saillie et également d’explorer les affections de l’appareil génital le cas échéant.
- Chez la chatte, on ne dispose que de **peu d’études** définissant les modifications physiologiques de l’appareil génital sous l’influence des hormones sexuelles observables au frottis vaginal.
- Les études récentes réalisées chez la femelle guépard et la lionne ont mis en évidence des **variations interspécifiques** importantes au sein de la famille des Félin, d’où l’importance de s’intéresser aux spécificités propres de chaque espèce.

Objectifs de l’étude:

- Démontrer l’intérêt de la réalisation et de l’analyse du frottis vaginal chez la chatte dans le suivi du **cycle sexuel** afin d’aider à la **maîtrise de la reproduction**.
- Mettre en évidence des **critères statistiquement différenciant** permettant une mise en application aisée par les vétérinaires.

Description du protocole:

- Les cellules vaginales sont récupérées grâce à l’introduction d’un **écouvillon humidifié** dans le vagin de la chatte. La manœuvre de prélèvement dure **quelques secondes**. Le geste est **peu invasif, non douloureux** et ne nécessite **ni contention franche ni sédation**.
- La **prise de sang** est réalisée à la veine saphène interne, **1 à 2 mL** sont suffisants. Le geste ne nécessite qu’une **contention minimale de courte durée**.

Annexe 2 : Consentements éclairés à destination des propriétaires

Consentement éclairé

Je soussigné, M/Mme.....,
demeurant à,
accepte qu'un **frottis vaginal** soit pratiqué sur ma chatte dans le cadre de l'étude sur l'intérêt du frottis vaginal dans le suivi du cycle sexuel et de la gestation chez la chatte. J'ai été correctement informé(e) des détails du protocole grâce à la fiche explicative qui m'a été remise.

.....
(A écrire par le propriétaire : Lu et approuvé)
Signature du propriétaire, date

Consentement éclairé

Je soussigné, M/Mme.....,
demeurant à,
accepte qu'un **frottis vaginal** et une **prise de sang** soient pratiqués sur ma
chatte dans le cadre de l'étude sur l'intérêt du frottis vaginal dans le suivi du
cycle sexuel et de la gestation chez la chatte. J'ai été correctement informé(e)
des détails du protocole grâce à la fiche explicative qui m'a été remise.

.....
(A écrire par le propriétaire : Lu et approuvé)
Signature du propriétaire, date

Annexe 3 : Protocole de coloration à l'aide du kit RAL Diff Quik™, extrait de la notice d'utilisation

Description du kit : (3 x 100 ml ou 3 x 500 ml)

Flacon ① : RAL Diff-Quik™ Fixative Solution

Flacon ② : RAL Diff-Quik™ Solution I

Flacon ③ : RAL Diff-Quik™ Solution II

Temps de réalisation d'un test : 15 secondes

- Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la solution RAL Diff-Quik™ Fixative Solution (flacon ①).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff-Quik™ Solution I (flacon ②).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff-Quik™ Solution II (flacon ③).
- Rincer la lame à l'eau distillée.

Annexe 4 : Protocole de coloration à l'aide du kit Diag-œstro RAL®, d'après (Dutey, 2015)

Solutions	Diag-œstro®
Rinsing Solution N°1	5 immersions
distilled water	5 immersions
Hematoxylin	5 immersions
distilled water	5 immersions
Differenciator	5 immersions
Rinsing Solution N°2	5 immersions
Shorr reagent	10 immersions
Rinsing Solution N°3	5 immersions

Annexe 5 : Base de données des résultats brutes (coloration RAL Diff Quik™)

N° CLOVIS	Date	Groupe	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles nucléées	Superficielles anucléées	Indice superficiel	PNN	Hématies
A20-7845	22/07/2020	1	73	27	0	0	0	0	0
A20-7840	22/07/2020	1	88	10	1	1	2	0	0
A20-7354	27/07/2020	1	97	2	1	0	1	0	0
A20-8129	19/08/2020	1	98	1	1	0	1	0	0
A20-8824	18/08/2020	1	33	38	20	9	29	0	0
A20-8959	20/08/2020	1	41	17	31	11	42	0	0
A20-8938	20/08/2020	1	35	27	20	17	37	0	0
A20-8499	20/08/2020	1	17	28	50	5	55	0	0
A20-8984	21/08/2020	1	25	52	14	9	23	0	0
A19-5199	21/08/2020	1	81	4	9	6	15	0	0
A20-9338	02/09/2020	1	85	5	6	4	10	0	0
A20-9337	02/09/2020	1	83	6	6	5	11	0	0
A20-8401	02/09/2020	1	58	24	15	3	18	0	0
A20-8456	02/09/2020	1	67	24	6	3	9	0	0
A20-7963	27/07/2020	1	96	4	0	0	0	0	0
A20-13991	26/11/2020	1	0	39	46	15	61	0	0
A20-5322	29/06/2020	2	29	63	8	0	8	0	0
A20-5077	29/06/2020	2	73	26	0	1	1	0	0
A20-8259	26/08/2020	2	94	5	0	1	1	0	0
A20-13379	17/11/2020	2	3	26	44	27	71	0	0
A20-12641	03/11/2020	2	16	51	24	8	32	0	0
A21-9067	22/06/2021	2	40	52	0	8	8	2	0
A21-2444	02/03/2021	2	0	54	46	0	46	0	0
A20-3475	09/03/2020	2	0	83	14	3	17	0	1
A18-2117	15/05/2020	2	0	57	27	16	43	0	0
A17-5792	19/05/2020	2	0	64	26	10	36	0	0
A20-4868	20/05/2020	2	0	29	43	28	71	0	0
A20-5322	29/05/2020	2	32	24	41	3	44	0	0
A20-5287	12/06/2020	2	0	18	72	10	82	0	0
A19-7481	20/01/2020	2	11	21	42	26	68	0	0
A20-6825	29/06/2020	2	2	10	73	7	80	0	0
A20-5322	19/06/2020	2	0	2	41	57	98	0	0
A20-4403	10/07/2020	3	62	19	14	5	19	0	0

A20-4159	07/08/2020	3	39	58	3	0	3	0	3	0	0
A17-11079	29/09/2020	3	30	20	38	12	50	0	0	0	0
A20-13440	17/11/2020	3	40	59	1	0	1	1	0	0	0
A20-2486	20/02/2020	3	46	32	23	9	32	0	0	0	0
A19-11094	20/02/2020	3	49	35	14	2	16	3	0	0	0
A20-3480	09/03/2020	3	20	64	13	3	16	0	0	0	0
A20-3270	25/05/2020	3	98	1	1	0	1	1	0	0	0
A20-5979	19/06/2020	3	59	41	0	0	0	1	0	0	0
A20-5322	10/07/2020	3	80	10	4	6	10	0	0	0	0
A20-5542	30/09/2020	3	13	82	5	0	5	3	0	0	0
A19-15630	23/11/2021	3	0	22	54	24	78	0	0	0	0
A20-3813	08/07/2020	4	83	17	0	0	0	0	0	0	0
A20-6693	01/07/2020	4	92	7	1	0	1	0	0	0	0
A20-9153	27/08/2020	4	0	41	34	25	59	0	0	0	0
A20-8830	19/08/2020	4	12	67	17	4	21	0	0	0	0
A19-340	29/07/2020	4	98	2	0	0	0	0	0	0	0
A20-10546	16/10/2020	4	16	48	16	18	34	0	0	0	0
A20-10545	16/10/2020	4	12	62	23	3	26	3	0	0	0
A17-11193	08/10/2020	4	87	6	6	1	7	0	0	0	0
A20-10116	28/09/2020	4	25	32	22	21	43	0	0	0	0
A20-8258	17/09/2020	4	77	5	5	13	18	1	0	0	0
A20-7710	07/09/2020	4	35	56	5	4	9	0	0	0	0
A20-7242	08/02/2021	4	12	45	14	29	43	0	0	0	0
A20-10547	29/09/2020	4	30	59	10	1	11	0	0	0	0
A20-3242	13/04/2020	4	11	54	32	3	35	3	0	0	0
A20-2344	28/02/2020	4	32	53	11	4	15	0	0	0	0
A20-3270	04/03/2020	4	98	1	1	0	1	1	0	0	0
A20-3813	16/03/2020	4	91	4	5	0	5	0	0	0	0
A20-4652	27/05/2020	4	4	48	43	5	48	0	0	0	0
A20-6801	08/09/2020	4	95	5	0	0	0	1	0	0	0
A19-10411	23/07/2020	5	24	38	30	6	36	0	0	0	0
A20-7834	21/07/2020	5	89	11	0	0	0	0	0	0	0
A20-6738	03/07/2020	5	89	9	2	0	2	0	0	0	0

A20-6738	03/07/2020	5	89	9	2	0	2	0	0	0	0	0
A20-7354	07/08/2020	5	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
A21-1975	08/02/2021	5	1	46	43	10	53	0	0	0	0	0
A20-4403	13/05/2020	5	20	36	38	6	44	0	0	0	0	0
A20-4159	07/05/2020	5	27	57	9	7	16	0	0	0	0	0
A20-5526	03/06/2020	5	38	39	16	7	23	0	0	0	0	0
A20-5077	19/06/2020	5	80	6	6	8	14	1	0	0	0	0
A20-4652	08/07/2020	5	0	47	53	0	53	0	0	0	0	0
A17-14212	15/07/2020	6	90	10	0	0	0	0	0	0	0	0
A20-8878	18/08/2020	6	64	13	11	12	23	0	0	0	0	0
A20-8987	21/08/2020	6	31	35	28	6	34	0	0	0	0	0
A20-7361	02/09/2020	6	2	17	56	25	81	0	0	0	0	0
A20-8400	02/09/2020	6	95	3	2	1	3	0	0	0	0	0
A18-12346	01/10/2020	6	28	19	25	19	53	0	0	0	0	0
A17-14209	30/09/2020	6	14	7	49	28	77	0	0	0	0	0
A19-3307	29/09/2020	6	0	16	55	29	84	0	0	0	0	0
A20-10545	29/09/2020	6	70	25	2	1	3	2	0	0	0	0
A20-13592	22/01/2021	6	10	35	32	23	55	0	0	0	0	0
A11-16415	29/01/2021	6	78	14	4	4	8	0	0	0	0	0
A21-1213	26/01/2021	6	87	7	2	4	6	1	0	0	0	0
A20-11428	07/10/2020	6	1	5	36	58	94	0	0	0	0	0

Annexe 6 : Base de données des résultats brutes (coloration Diag-œstro RAL®)

N° CLOVIS	Date	Groupe	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles nucléées	Superficielles anucléées	Indice superficiel	PNN	Hématies
A20-6827	28/07/2020	1	11	53	10	26	36	0	0
A20-7354	10/01/1900	1	95	5	0	0	0	0	0
A20-7361	02/09/2020	1	3	44	42	11	53	0	0
A20-7840	22/07/2020	1	62	28	0	10	10	0	0
A20-7845	22/07/2020	1	66	26	6	2	8	0	0
A20-7963	27/07/2020	1	64	25	2	9	11	0	0
A20-8208	28/07/2020	1	10	41	12	37	49	0	0
A20-8400	02/09/2020	1	95	4	1	0	1	0	0
A20-8401	02/09/2020	1	18	63	8	11	19	0	0
A20-8456	02/09/2020	1	73	13	2	12	14	0	0
A20-8499	20/08/2020	1	23	70	4	3	7	0	0
A20-8500	20/08/2020	1	1	4	60	35	95	0	0
A20-8824	18/08/2020	1	41	38	13	8	21	0	0
A20-8830	19/08/2020	1	2	50	33	15	48	0	0
A20-8878	18/08/2020	1	53	4	24	19	43	0	0
A20-8959	20/08/2020	1	64	35	10	1	10	0	0
A20-8984	21/08/2020	1	13	60	13	14	27	0	0
A20-8987	21/08/2020	1	7	78	3	2	5,555555556	0	0
A20-13440	17/11/2020	2	55	44	1	0	1	0	0
A20-13991	26/11/2020	2	2	65	24	9	33	0	0
A20-5077	29/06/2020	2	41	45	9	5	14	0	0
A20-5322	29/05/2020	2	22	74	3	1	4	0	0
A20-8257	26/08/2020	2	0	0	33	67	100	0	0
A20-8258	26/08/2020	2	0	1	50	49	99	0	0
A21-2444	02-mars	2	2	36	21	15	48,64864865	0	0
A21-9067	22/06/2021	2	28	36	21	15	36	1	0
A19-7481	20/01/2020	2	0	1	21	78	99	0	0
A20-3475	09/03/2020	2	1	72	20	7	27	0	0
A18-2117	15/05/2020	2	0	1	12	87	99	0	0
A17-5792	19/05/2020	2	0	0	33	67	100	0	0
A20-4868	20/05/2020	2	0	0	72	28	100	0	0
A20-6825	29/06/2020	2	0	2	62	36	98	0	0
A20-4403	10/07/2020	3	9	39	22	30	52	0	0

A20-5322	29/06/2020	3	16	76	5	3	8	0	0
A20-5542	30/09/2020	3	2	87	5	6	11	2	0
A20-7354	07/08/2020	3	21	39	18	22	40	3	0
A20-8258	17/09/2020	3	88	7	2	3	5	0	0
A20-2486	20/02/2020	3	17	56	2	25	27	0	0
A20-3269	04/03/2020	3	11	57	21	11	32	0	0
A20-3480	09/03/2020	3	4	71	17	8	25	0	0
A20-3270	25/05/2020	3	96	4	0	0	0	0	0
A19-11094	20/02/2020	3	19	73	8	0	8	0	0
A20-5979	19/06/2020	3	95	5	0	0	0	0	0
A19-7481	10/06/2020	3	63	19	3	15	18	0	0
A19-15630	23/11/2021	3	0	42	13	45	58	0	0
A19-10411	25/08/2020	4	15	35	40	10	50	0	0
A20-10116	28/09/2020	4	38	35	9	18	27	0	0
A20-10545	16/10/2020	4	3	82	11	14	22,72727273	1	0
A20-10545	29/09/2020	4	95	4	1	0	1	0	0
A20-10546	16/10/2020	4	25	62	7	6	13	0	0
A20-10546	29/09/2020	4	43	52	1	4	5	0	0
A20-3813	16/03/2020	4	66	27	5	2	7	0	0
A20-6693	01/07/2020	4	77	23	0	0	0	0	0
A20-6801	08/09/2020	4	75	21	3	1	4	0	0
A20-7241	29/07/2020	4	83	3	3	11	14	0	0
A20-7243	29/07/2020	4	95	4	1	0	1	0	0
A20-7710	27/07/2020	4	86	10	1	3	4	0	0
A20-7710	07/09/2020	4	51	43	1	5	6	0	0
A20-8257	12/10/2020	4	64	35	1	0	1	0	0
A21-1975	08/02/2021	4	0	59	25	26	46,36363636	2	0
A20-3242	13/04/2020	4	8	66	18	8	26	0	0
A20-3270	04/03/2020	4	100	0	0	0	0	0	2
A20-3813	16/03/2020	4	96	4	0	0	0	0	0
A20-4652	27/05/2020	4	11	85	3	1	4	0	0
A20-10116	28/09/2020	4	38	35	9	18	27	0	0

A17-9331	10/07/2020	5	52	30	13	5	18	3	0
A19-10411	23/07/2020	5	6	90	3	1	4	0	0
A19-340	29/07/2020	5	83	9	8	0	8	0	0
A20-4159	07/08/2020	5	52	38	10	0	10	2	0
A20-6738	03/07/2020	5	81	12	1	6	7	0	0
A20-7025	07/07/2020	5	0	11	59	30	89	0	0
A20-7355	07/08/2020	5	43	46	6	5	11	3	0
A20-7834	21/07/2020	5	64	12	7	17	24	0	0
A20-8259	26/08/2020	5	84	7	4	5	9	0	0
A20-4403	13/05/2020	5	12	46	29	13	42	0	0
A20-4159	07/05/2020	5	6	90	4	0	4	0	0
A20-5077	29/05/2020	5	95	5	0	0	0	0	0
A20-5526	03/06/2020	5	60	38	1	1	2	2	0
A20-10547	29/09/2020	5	48	48	2	0	2,040816327	0	0
A09-11404	15/07/2020	6	0	21	9	60	76,66666667	1	0
A11-16415	29/01/2021	6	72	20	3	5	8	0	0
A17-11079	29/09/2020	6	21	48	24	7	31	0	0
A17-14209	30/09/2020	6	5	20	39	36	75	0	0
A17-14212	15/07/2020	6	96	4	0	0	0	0	0
A18-11389	21/07/2020	6	7	69	10	14	24	0	0
A18-12346	01/10/2020	6	37	36	4	23	27	0	0
A19-3307	29/09/2020	6	6	38	45	11	56	0	0
A19-5199	21/08/2020	6	95	2	2	1	3	0	0
A20-11428	07/10/2020	6	0	25	5	70	75	0	0
A20-12641	03/11/2020	6	7	13	55	25	80	0	0
A20-8129	19/08/2020	6	98	2	0	0	0	0	0
A20-9337	02/09/2020	6	60	15	18	7	25	0	0
A20-9338	02/09/2020	6	85	12	2	1	3	0	0
A17-11193	08/10/2020	6	94	4	1	1	2	3	0

Annexe 7 : Médianes et intervalles de confiance à 95% calculés après coloration à l'aide du kit RAL Diff Quik™

	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles nucléées	Superficielles anucléées	Indice superficiel
Groupe 1	70 [33;88]	20,5 [4;28]	7,5 [1;20]	4,5 [0;9]	13 [1;37]
Groupe 2	2,5 [0;32]	27,5 [18;57]	34 [8;44]	8 [1;26]	43,5 [8;71]
Groupe 3	43 [13;80]	33,5 [10;64]	9 [1;38]	2,5 [0;12]	13 [1;50]
Groupe 4	32 [12;91]	41 [5;54]	10 [1;22]	3 [0;13]	15 [1;35]
Groupe 5	25,5 [0;89]	37 [0;57]	12,5 [0;53]	6 [0;10]	19,5 [0;53]
Groupe 6	31 [1;90]	14 [5;35]	25 [2;55]	12 [1;29]	34 [3;84]

Annexe 8 : Médianes et intervalles de confiance à 95% calculés après coloration après coloration à l'aide du kit RAL Diagnostro®

	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles nucléées	Superficielles anucléées	Indice superficiel
Groupe 1	32 [7;66]	36,5 [5;60]	9 [2;24]	10,5 [2;19]	16,5 [7;48]
Groupe 2	0,5 [0;28]	19 [0;65]	21 [9;50]	21,5 [5;67]	73,32432 [14;100]
Groupe 3	17 [2;95]	42 [5;76]	5 [0;21]	8 [0;30]	18 [0;52]
Groupe 4	57,5 [15;86]	35 [4;59]	3 [1;9]	3,5 [0;11]	5,5 [1;26]
Groupe 5	52 [6;83]	34 [9;48]	5 [1;13]	3 [0;13]	8,5 [2;24]
Groupe 6	37 [5;94]	20 [4;36]	5 [1;24]	7 [1;25]	25 [2;75]

LE FROTTIS VAGINAL CHEZ LA CHATTE : ÉTUDE DE L'IMPACT DU CYCLE SEXUEL, DE LA GESTATION ET DE LA STÉRILISATION

AUTEUR : Mathilde AGBALÉ

RÉSUMÉ :

L'analyse de l'évolution de la colpocytologie au cours du cycle sexuel participe à la maîtrise de la reproduction chez les carnivores. Il y a peu d'études publiées traitant de colpocytologie chez la chatte. L'objectif de cette thèse était de décrire les caractéristiques de la colpocytologie physiologique chez la chatte, avant la puberté, à chaque étape du cycle sexuel, lors d'une gestation et après stérilisation. Pour cela, des frottis vaginaux ont été réalisés chez des chattes réparties en 6 groupes selon leur statut sexuel, à partir de critères comportementaux, de dosages hormonaux et d'examen échographiques. Un étalement sur deux lames pour deux colorations différentes (RAL Diff Quik™ et Diag-œstro RAL®) a été réalisé pour chaque frottis. Cent cellules épithéliales ont été identifiées et la présence d'hématies et de PNN a été évaluée semi-quantitativement sur chaque lame de frottis lue sans connaître le statut de la chatte correspondante.

À partir de 182 lames de frottis, nous avons mis en évidence : une majorité de cellules parabasales et intermédiaires parmi les chattes prépubères, les chattes en dioestrus et les chattes en interœstrus, une majorité de cellules superficielles parmi les chattes en chaleurs, une proportion importante de cellules superficielles parmi les chattes stérilisées par rapport aux chattes des autres groupes, une quasi-absence d'hématies et la présence ponctuelle de PNN parmi les chattes en dioestrus, les chattes en chaleurs et les chattes en interœstrus. Les discordances mises en évidence par rapport aux données de la littérature suggèrent l'existence d'une variabilité individuelle dans l'évolution de la colpocytologie chez la chatte et posent la question de l'impact des choix méthodologiques (recrutement, coloration, technique de lecture etc.), de l'utilité de la technique et de sa sensibilité dans le suivi du cycle sexuel.

Ces résultats invitent à construire de nouvelles études pour tester les hypothèses nouvellement soulevées, étudier l'intérêt du frottis vaginal dans l'exploration d'affections uro-génitales et étudier l'intérêt de la réalisation concomitante d'autres examens complémentaires (dosages hormonaux, examen d'imagerie).

MOTS CLÉS : CHAT, CARNIVORE DOMESTIQUE, COLPOCYTOLOGIE, CYCLE SEXUEL, PHYSIOLOGIE

JURY :

Présidente : Dr Christelle MAUREY-GUÉNEC

Directeur de thèse : Pr Alain FONTBONNE

Examinateur : Dr Pierre DESHUIILLERS

Invitée : Dr Juliette ROOS-PICHENOT

VAGINAL CYTOLOGY IN QUEENS : A STUDY OF THE IMPACT OF THE SEXUAL CYCLE, PREGNANCY AND SPAYING

AUTHOR: Mathilde AGBALÉ

SUMMARY:

The analysis of vaginal cytology during the sexual cycle helps monitoring reproduction in carnivores. There are few published studies dealing with vaginal cytology in the queen. The objective of this thesis was to describe the characteristics of physiological changes in vaginal cytology in the queen, before puberty, at each stage of the sexual cycle, during pregnancy and after spaying. For this purpose, vaginal smears were taken from queens divided into 6 groups according to their sexual status, based on behavioral criteria, hormonal assays and ultrasound examination. A spread on two slides for two different stains (RAL Diff Quik™ and Diag-cestro RAL®) was performed. One hundred epithelial cells were identified and the presence of red blood cells and polynuclear neutrophils was assessed semi-quantitatively on each smear without knowing the status of the corresponding queen. From 182 smear, we demonstrated: a majority of parabasal and intermediate cells among prepubertal, diestrus and interestrus queens, a majority of superficial cells among queens in heat, a significant proportion of superficial cells among neutered queens compared to queens in other groups, a near absence of red blood cells and the occasional presence of polynuclear neutrophils among diestrus, heat and interestrus cats. The discrepancies highlighted in comparison to the data found in the literature suggest the existence of individual variability in the evolution of vaginal cytology in queens and raise the question of the impact of methodological choices (recruitment, staining, reading technique, etc.), the usefulness of the technique and its sensitivity in monitoring the sexual cycle.

These results invite to build new studies to test the newly raised hypotheses, to study the usefulness of the vaginal smear in the exploration of urogenital affections and to study the importance of the concomitant realization of other complementary examinations (hormonal assays, imaging examination).

KEYWORDS: CAT, DOMESTIC CARNIVORE, VAGINAL CYTOLOGY, SEXUAL CYCLE, PHYSIOLOGY

JURY:

Chairperson: Dr Christelle MAUREY-GUÉNEC

Thesis Director: Pr Alain FONTBONNE

Reviewer: Dr Pierre DESHUIILLERS

Guest: : Dr Juliette ROOS-PICHENOT