

الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية
République Algérienne Démocratique et Populaire
العلمي والبحث العالي التعليم وزارة
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

l'université Ibn Khaldoun, Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

En

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.
Filière : Sciences Biologiques.
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

Bibi Hanane, Chebicheb Asmaa & Maaref Sara

Intitulé

Identification des germes pathogènes responsables de l'endométrite Chez la vache

Devant les membres de jury :

Président Dr. TADJ A.	MAA
Examineur Dr. HOUARI HMIDA	MCA
Encadreur Dr. ACHIR M.	MCB

Année universitaire 2018-2019

Tables des matières

Résumés
Remerciements
Dédicaces
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction

Synthèse bibliographique

1	Rappels anatomiques de l'appareil génital de la vache.....	2
1.1	Utérus :	2
1.2	Cornes utérines :	3
1.3	Corps de l'utérus :	3
1.4	Col de l'utérus :	3
1.5	Trompes utérines :	4
1.6	Ovaires :	4
2	Rappels Histologiques.....	5
2.1	Périmétrium : (Séreuse).....	5
2.2	Myomètre : (Myometrium) ou musculuse.....	5
2.3	Endomètre :	6
3	Les infections utérines	7
3.1	Les endométrites.....	7
3.2	Les différentes formes de l'endométrite	7
3.2.1	Endométrite Clinique	7
3.2.2	Endométrite subclinique	8
3.3	Les facteurs responsables de l'endométrite	8
3.4	Les facteurs déterminants des infections utérines	9
3.4.1	Facteurs liés à l'animal.....	9
3.4.2	Fécondité antérieure et antécédents pathologique	9
3.4.3	Déséquilibre hormonaux et reprise de l'activation cyclique.....	9
3.4.4	Facteurs liés à l'alimentation et à l'environnement.....	9
3.4.5	L'environnement	9
3.4.6	L'alimentation.....	10
4	Les méthodes diagnostiques.....	11
4.1	Palpation transrectale	11
4.2	Examen général.....	11
4.3	Examen échographique	12
4.4	Examen cytologique	12
5	Traitement des germes pathogènes.....	13

5.1	Les antibiotiques	13
5.2	Les hormones	13
5.2.1	Les prostaglandines	13
5.3	Les anti-inflammatoires	14
5.3.1	Limitation des ressources de germes.....	14
5.3.2	Limitation de la transmission des germes.....	14

Partie expérimentale

1	Matériel et Méthode.....	15
1.1	Matériel et réactifs	15
2	Démarche expérimentale.....	16
2.1	Prélèvement.....	16
2.1.1	Conservation.....	17
2.2	Préparation des frottis.....	17
2.3	Préparation des milieux de culture	18
2.3.1	Milieu de Chapman.....	18
2.3.2	Milieu de Mac Conkey.....	18
2.4	Purification.....	19
2.5	Identification des souches	19
2.6	La coloration de gram	20
2.7	Les tests biochimiques.....	21
2.7.1	Test de fermentation de la Mannitol-mobilité.....	21
2.7.2	Test de citrate de Simmons.....	21
2.7.3	Test décarboxylase ODC, LDC, et des di hydrolase ADH bactérienne.....	22
2.7.4	Test TSI (triple Sugar Iron).....	22
2.8	L'antibiogramme :	22
2.8.1	la standardisation :	22
2.8.2	Etude de la sensibilité des souches antibiotique.....	22
3	Résultats	23
3.1	Echantillon 1.....	23
3.1.1	Identification biochimiques des isolats.....	24
3.1.2	Résultats des tests biochimiques :	25
3.1.3	L'antibiogramme.....	26
3.2	Echantillon 2.....	26
3.2.1	Identification biochimiques des isolats.....	27
3.2.2	L'antibiogramme.....	27

Discussion

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

L'endométrite est une pathologie fréquente dans nos élevages; son étiologie est très large et les pertes économiques qu'elle engendre peuvent être importantes pour l'exploitation, notamment, une baisse dans la production laitière.

Cette étude se propose d'identifier les germes pathogènes responsables de l'endométrite bovine et procéder à un antibiogramme qui vise à tester la sensibilité des germes aux différents antibiotiques et par conséquent proposer une antibiothérapie de choix.

Il ressort des résultats de l'analyse microbiologique de quelques échantillons de la muqueuse endométriale de vaches atteintes de cette pathologie a révélé la prédominance de souches *E. coli* et *staphelococcus* à l'intérieur de la muqueuse utérine et notamment dans le col de l'utérus.

A la lumière de ces résultats et dans la perspective de minimiser l'incidence de cette pathologie sur l'élevage la prévention s'avère nécessaire par la bonne maitrise des conditions d'élevage.

Mots clés:

Vache, endométrite, postpartum , *E.coli* ,Staphylocoque ,antibiogramme

Abstract:

Endometritis is a common pathology in our farms; its etiology is very broad and the economic losses that can be important for the exploitation, in particular, a decrease in milk production

This study aims to identify the pathogenic organisms responsible for bovine endometritis and to carry out an antibiogram which aims to test the sensitivity of the germs to the different antibiotics and consequently to propose an antibiotherapy of choice.

The results of the microbiological analysis of some samples of the endometrial mucosa of cows with this pathology revealed the predominance of *E. coli* and *Staphelococcus* strains inside the uterine lining and especially in the cervix. .

In the light of these results and in order to minimize the incidence of this pathology on livestock, prevention is necessary for the good control of breeding conditions.

Key words

Cow, endometritis, postpartum, E. coli, Staphylococcus, antibiogram

الملخص

التهاب بطانة الرحم هو مرض شائع في مزارعنا. مسبباته واسعة جدا والخسائر الاقتصادية التي يسببها يمكن أن تكون كبيرة وعلى وجه الخصوص انخفاض في إنتاج الحليب. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد الكائنات المسببة للأمراض المسؤولة عن التهاب بطانة الرحم البقري من جهة ومن جهة أخرى إجراء اختبار يهدف إلى قياس حساسية هذه الجراثيم للمضادات الحيوية المختلفة وبالتالي اقتراح مضاد حيوي فعال لعلاج هذا المرض. كشفت نتائج التحليل الميكروبيولوجي لبعض عينات الغشاء المخاطي للرحم في الأبقار عن غالبية الجراثيم الموجودة هي من سلالات *Staphylococcus* داخل بطانة الرحم و *E. coli* في عنق الرحم. على ضوء هذه النتائج ومن أجل الحد من انتشار هذا المرض عند الأبقار عن طريق الوقاية و التحكم الجيد في ظروف التكاثر.

الكلمات المفتاحية :

بقرة , التهاب بطانة الرحم, بعد الولادة, المضادات الحيوية, *E. Coli* , *Staphylocoque*

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier «ALLAH» le tout puissant de nous avoir

donné le courage, la force de mener à bien ce modeste travail.

On tient à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à Dr. ACHIR M.

pour avoir proposé ce sujet si intéressant ainsi que pour son encadrement, son orientation,

son aide et ses conseils.

On remercie les membres du jury Dr Hourri .H ,Dr tadj .A et le chef de spécialité Dr Taïbi .K.

d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail, nous vous en sommes très Reconnaisantes.

Nous tenons à remercier Dr Benaïssa Toufik et le vétérinaire mnsr Taïb et chef de laboratoire microbiologique khaïra et benhalima pour leur aide.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A mon Papa et ma Maman, qui m'ont offert ces belles études et qui ont surtout toujours été là pour moi. Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis. Pour avoir supporté mon stress et mes « ça va pas aller » pendant toutes ces années ;

Je Vous aime très fort.

A mes deux soeurs adorées Nadja et Siham et mon frère brahim ; pour leurs encouragements.

A mes amis : Sara, Asmaa, Hafida, Aicha, Halima, Salima les plus belles rencontres de mes années d'études ; Pour leur sincère amitié

Merci pour tous ces merveilleux moments passés ensemble je vous aime.

À tous ces intervenants,

A tous mes collègues de promotions 2019 de biologie moléculaire.

Je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Dédicace

A mon Papa et ma Maman, qui m'ont offert ces belles études et qui ont surtout toujours été là pour moi. Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis. Pour avoir supporté mon stress et mes « ça va pas aller » pendant toutes ces années ;

Je Vous aime très fort.

A mes sœurs et mes deux frères Mohammed et Souamama ; pour leurs encouragements.

A mes amis : Hanane Sirine , Sara, Hafida , Aicha Halima, Donia, Hanan , Khdidja Hanaa , madjida, Touta , Rabi3a , , Salihā les plus belles rencontres de mes années d'études ; Pour leur sincère amitié

Merci pour tous ces merveilleux moments passés ensemble je vous aime.

À tous ces intervenants,

Je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude

Dédicace

Je dédie ce travail à la plus chère personne du monde, mon père rabi yirahmou et ma mère à qui je dois mon éducation et ma réussite. Que Dieu la garde pour moi en bonne santé.

A la perle rare et précieuse, à ma source d'amour et d'affection, qui pense et prie tous les jours pour moi, à toi maman.

A ma chère sœur Hanane et mes chers frères Ahmed et Mourad.

A mes chères amies: Amel, Amina, Djihad, Hafida, Hanane, Amina, Asmaa, Houda, Boutheina, Iman, Hanane

Merci à toute personne qui m'a aidé et qui m'a encouragé.

A tous mes collègues de promotions 2019 de biologie moléculaire.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Vue dorsale de l'utérus, paroi vaginale ouverte et rabattue.....	1
Figure 2. Vue dorsale de l'anatomie interne du col de l'utérus de la vache	2
Figure 3. Aspect histologique de l'utérus de la vache.	3
Figure 4. Histologie de l'endomètre de vache et des glandes utérines	4
Figure 5. l'endométrite clinique.	5
Figure 6. Sonde intravaginale Metricheck	8
Figure 7. principe de la mise Metricheck	8
Figure 8. image échographique d'un pyromètre (la ligne jaune identifié les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine distendue).	9
Figure 9. cyotbrosse.....	9
Figure 10. Photos de Matériel utilisé. Réactifs	12
Figure 11. Photos d'échantillons	13
Figure 12. préparation de milieux de culture Chapman.	14
Figure 13. préparation de milieux de culture Mac Conkey.	15
Figure 14. Action de purification des colonies.	15
Figure 15. les différentes étapes de la coloration de Gram.	16
Figure 16. Tests biochimiques	17
Figure 17. Réalisation de l'antibiogramme.....	19
Figure 18. étapes de l'antibiogramme.	19
Figure 19. Test Mannitol-Mobilité.	22
Figure 20. Test Citrate de Simmons.	22
Figure 21. Test TSI.....	23
Figure 22. Test de Recherche des décarboxylases ADH, ODC et LDC.....	24
Figure 23. Disques d'antibiotiques testés sur une culture de gélose Muller de Hinton	25
Figure 24. Disques d'antibiotiques testés sur la culture de gélose Muller de Hinton.	27

Liste des tableaux

Tableau 1. Antibiotiques utilisés.....	28
Tableau 2. Lieux de prélèvement et milieux de culture.	37
Tableau 3. Aspect macroscopique et microscopique des isolats	38
Tableau 4. Les résultats des tests biochimiques échantillon 1	38
Tableau 5. Résistance des bactéries aux antibiotiques.	41
Tableau 6. Aspect macroscopique et microscopique des isolats.	42
Tableau 7. Résultats des tests biochimiques échantillon 2	43
Tableau 8. Résistance des bactéries aux antibiotiques	43

Introduction

Introduction

La gestion de l'élevage fait l'objet d'une prise de conscience : « la reproduction Comme porte d'entrée du conseil en élevage ». L'objectif général est l'obtention d'une Vache gravide dans les meilleurs délais possibles et les meilleures conditions économiques.

Il semble évident que la pathologie utérine occupe une place majeure au cours du *postpartum* ; chez la vache; elle affecte les performances de la reproduction et retarde l'involution utérine. Parmi ces infections utérines, nous citerons entre autre, les endométrites qui sont des inflammations superficielles de la muqueuse utérine au-delà de 21 jours du *postpartum*. (Gilbert et al., 2005, Gautam et al ., 2009, Kim et al., 2003), elles peuvent être à l'origine d'infécondité, de stérilité voir même de la réforme prématurée de la vache, ce qui entrave sérieusement la rentabilité économique de l'exploitation.

En fait, la multiplicité des facteurs intrinsèques et extrinsèques de ces infections montre clairement qu'elles sont l'expression clinique d'une défaillance immunitaire de l'appareil génital face à des traumatismes, des déséquilibres métaboliques et nutritionnels d'une part, à des erreurs de conduite alimentaire ou d'hygiène d'autre part. La conséquence majeure de ces infections utérines a un impact négatif sur les performances de reproduction, d'où l'intérêt d'un contrôle d'involution, pratiqué autour de trente jours post-partum, qui permet principalement de diagnostiquer les endométrites chroniques.

Les endométrites sont un problème majeur chez la vache, leur survenue étant à l'origine d'une performance de reproduction et de pertes économiques pour l'élevage. (Ahmadi et al. 2006, Ahmadi et al. 2009).

Plusieurs études se sont intéressées à cette pathologie et ont porté essentiellement sur l'aspect microbiologique et ont montré toutes que la détermination exacte de l'identité des germes responsables de l'endométrite est nécessaire pour envisager des protocoles thérapeutiques efficaces.

En l'occurrence cette étude se propose d'identifier les germes pathogènes responsables de l'endométrite et procéder à un antibiogramme qui vise à tester la sensibilité des germes aux différents antibiotiques et par conséquent proposer une antibiothérapie de choix.

Partie

bibliographique

1 Rappels anatomiques de l'appareil génital de la vache :

Le tractus génital femelle dérive à partir d'un tissu identique de l'embryon, il est suspendu dans la cavité pelvienne et comprend la vulve, le vagin, l'utérus, les trompes de Fallope, les ovaires et des structures de soutien (Ball et Peters, 2004) (**fig. n 01**).

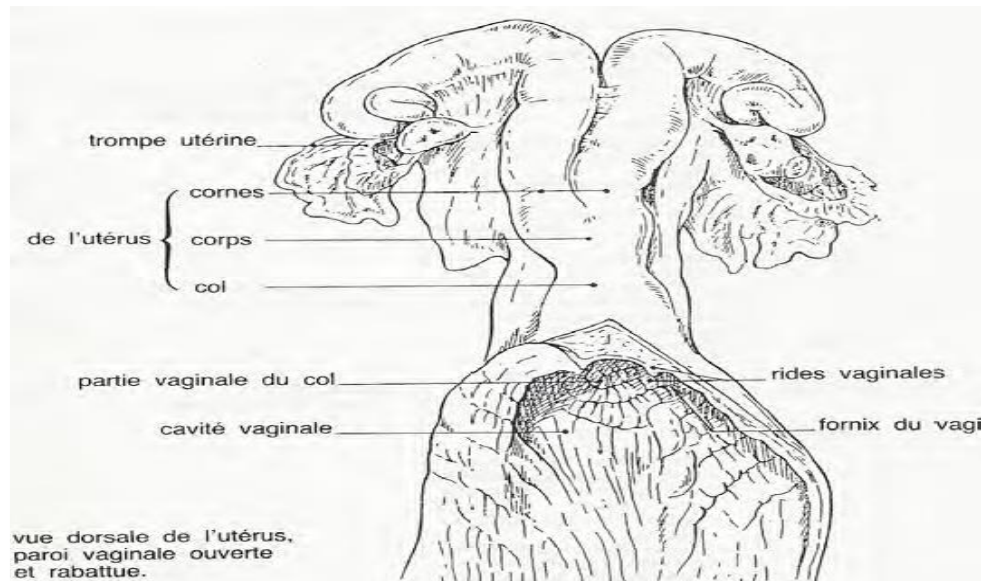


Figure 01. Vue dorsale de l'utérus, paroi vaginale ouverte et rabattue de la vache (Coche, 1987).

1.1 L'utérus :

L'utérus est l'organe de la gestation. Il est du type bipartitus chez la vache, caractérisé par la longueur de ses cornes, qui varie de 35 à 45cm, et leur rétrécissement progressif en direction des trompes utérines. (Barone, 1978).

L'utérus pèse en moyenne 400 grammes (200 à 550 grammes) et représente 1/1500^{ème} du poids vif de l'animal (Hanzen, 2009).

1.2 Les cornes utérines :

Ce sont des conduits indépendants, cylindroïdes. Elles mesurent de 35 à 45 cm sur leur grande longueur avec un diamètre allant de 0,5 cm côté trompe à 4 cm côté col. Elles sont incurvées

en spirale, avec un bord libre fortement convexe. Les cornes sont accolées sur environ 10 cm à leur base, ou elles sont maintenues par un perimetrium commun (Barone, 1990).

1.3 Le corps de l'utérus :

Il est court chez la vache (3 cm), cylindroïde, un peu déprimé dans le sens dorso-ventral ce qui permet de lui reconnaître deux faces, deux bords, ainsi que deux extrémités :

- La face dorsale et la face ventrale et les bords
- L'extrémité crâniale et l'extrémité caudale (Hanzen, 2009).

1.4 Le col de l'utérus :

Le col de l'utérus ou cervix est peu discernable en surface sur une pièce anatomique. Il est beaucoup plus long (10cm) que le corps utérin. Il présente la particularité chez la vache d'être fibreux et de comporter une structure interne dite "en fleurs épanouies" qui en rend la cathétérisation difficile (Hanzen, 2009).

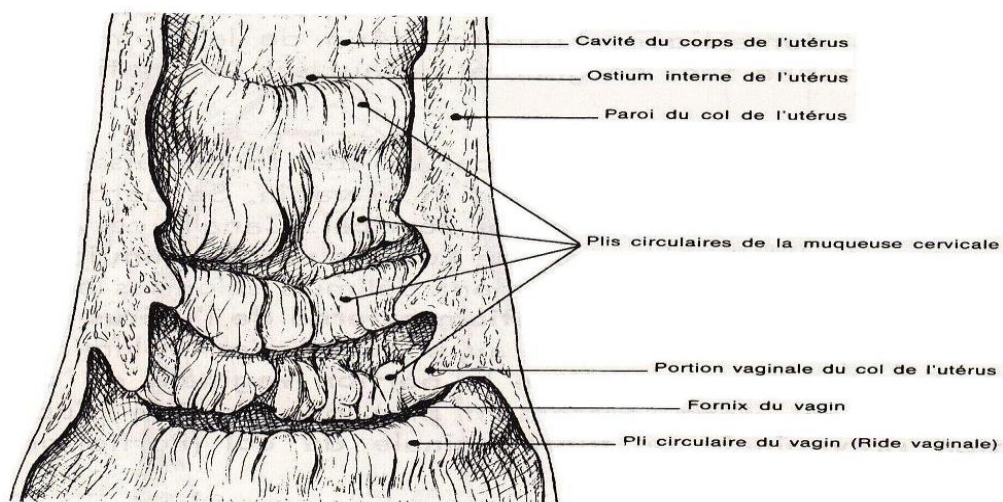


Figure0 2. Vue dorsale de l'anatomie interne du col de l'utérus de la vache, d'après Barone (1978)

1.5 Les trompes utérines :

Les trompes utérines, appelées encore oviductes ou salpinx, la partie initiale des voies génitales de la femelle. C'est un conduit musculo-membraneux, pair, étroit, qui reçoit les ovocytes libérés par l'ovaire, abrite la fécondation et assure le transfert de l'oeuf fécondé en cours de clivage puis leur multiplication jusqu'à l'utérus (Barone, 1978).

1.6 Les ovaires :

L'ovaire est la glande génitale de la femelle .C'est un organe pair et constitue la réserve des ovocytes formés pendant la vie embryonnaire. Sa fonction essentielle est d'utiliser progressivement ce stock jusqu'à épuisement. Il assure la préparation de l'utérus à l'implantation de l'oeuf fécondé, par transformation après ovulation du follicule rompu en corps jaune (Barone, 1978).

2 Rappels Histologiques

Selon BARONE, 1978 la paroi de l'utérus est composée de trois tuniques : une séreuse, une musculuse et une muqueuse, respectivement nommées périmétriium, myométre et endomètre (Fig 03).

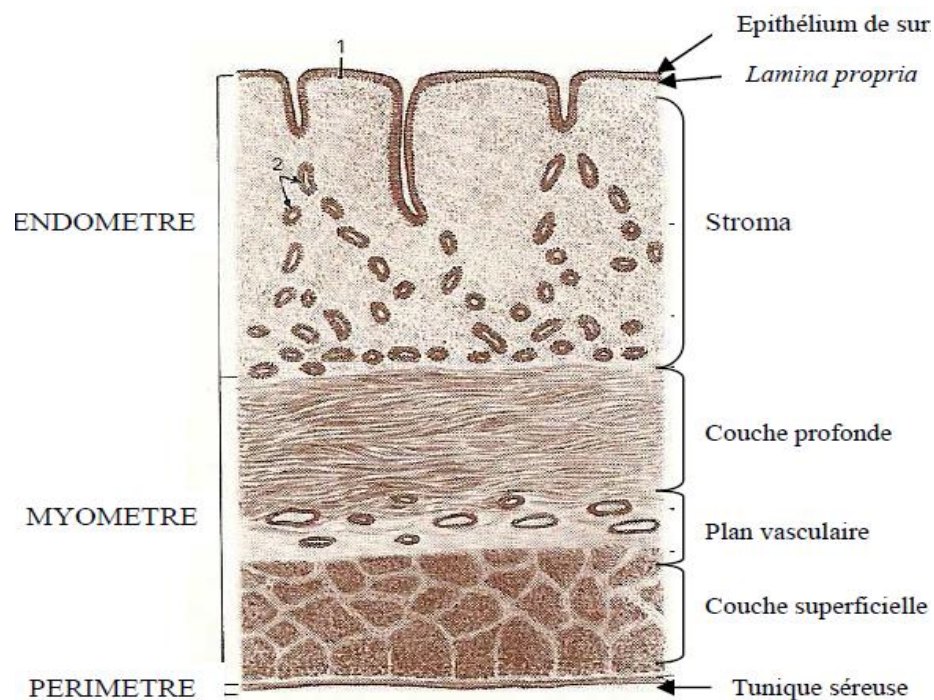


Figure 03. Aspect histologique de l'utérus de la vache (Pavaux, 1981).

2.1 Le périmétriium : (Séreuse)

La séreuse ou périmétriium est un tissu conjonctivo-élastique, accolé en surface au mésothélium péritonéal peu adhérent à la couche sous-jacente, tandis que dans le corps et les cornes de l'utérus (Barone, 1978).

2.2 Le myométre : (Myometrium) ou musculuse

Dans l'épaisseur de la musculature utérine ou myomètre, se trouvent des cellules musculaires lisses composées de myofibrilles et d'un sarcoplasme. Des cellules nerveuses sont également incluses dans des plexus nerveux et assurent à elles seules l'autonomie des contractions utérines (Hanzen, 2003).

La musculature ou myomètre est épaisse et son organisation complexe. Il est constitué par trois couches inégales, souvent mal délimitées, et organisées de façon variable selon les niveaux : La couche superficielle, La couche moyenne, La couche profonde (Barone, 1978).

2.3 L'endomètre :

L'endomètre est le siège de remaniements histologiques beaucoup plus importants que le myomètre, comprenant un phénomène de dégénérescence et de régénérescence. Parallèlement, des histiocytes, des monocytes, des mastocytes, des polynucléaires et des cellules géantes multi nucléées apparaissent rapidement dans l'épaisseur de l'endomètre (Badinand, 1975).

L'endomètre retrouve une structure histologique normale en trente à cinquante jours. L'involution de l'endomètre est donc complète à la huitième semaine post-partum (Hanzen, 2003).

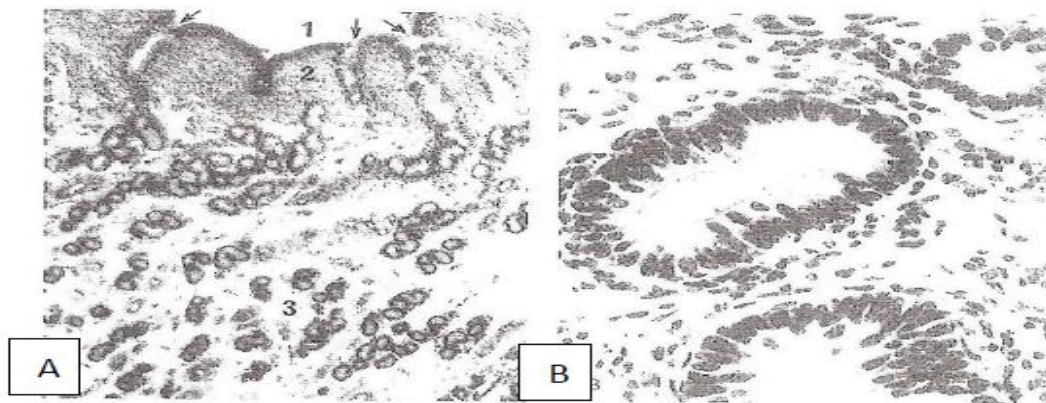


Figure 04. Histologie de l'endomètre de vache et des glandes utérines (Barone , 1978)

A: Fin du métœstrus

B : Glandes utérines de vache

1. Lumière utérine, tapissée par l'épithélium. Les flèches indiquent les embouchures des glandes utérines.
2. Stratum compactum riche en cellules
3. Stratum spongiosum (vaisseaux et nombreuses glandes flexueuses)

3 Les infections utérines

L'endomètre, comme la plupart des muqueuses, constitue une barrière de lutte efficace contre les infections bactériennes. Il permet à l'utérus de se débarrasser des contaminants sans que l'intégrité fonctionnelle de celui-ci ne soit sérieusement compromise. La plupart des vaches éliminent ces bactéries durant les cinq premières semaines post-partum, mais lorsque la réponse immunitaire systémique ou locale utérine est inhibée, les bactéries peuvent s'établir dans l'utérus, proliférer et finalement causer une infection utérine (Lewis, 1997).

3.1 Les endométrites

Sont des inflammations utérines de l'endomètre (DEGUILLAUME *et al* ,2009).

Elle est causée par une infection bactérienne et elle est observée après le vêlage, la cavité utérine va contaminer systématiquement par des germes d'origine environnementales. Elle et particulièrement touche l'utérus et les organes génitaux (JEAN *et al*, 2011).

3.2 Les différentes formes de l'endométrite

3.2.1 Endométrite Clinique

Sa persistance au-delà de la troisième semaine du post-partum après le vêlage. Elle ne provoque aucun des symptômes généraux mais il existe des symptômes locaux qui sont marqués par des écoulements qui comportent Des flocons de pus (premier degré), des mucopurulents (deuxième degré) ou bien des écoulements purulents (troisième degré) (Le Blanc *et al* 2002).



Figure 5. l'endométrite clinique (hanzen,2009).

3.2.2 Endométrite subclinique(ESC)

Se manifeste d'un état inflammation de l'endomètre qui ne provoque aucun des symptômes par exemple les sécrétions anormales ou lésions et aussi pas des écoulements purulents.

Il y'a un impact négatif (-) sur la période de la production (Sheldon et al, 2006).

3.3 Les facteurs responsables de l'endométrite

- Age de l'animal : le risque d'apparition d'une infection utérine est moins élevé chez les pluripares que chez les primipares (Hanzen et al ,1996).
- Saison de vêlage : chez les vaches viandeuses aucun effet, mais chez les vaches laitières, il ya une réduction du risque d'infection utérine quand les vêlages apparaissent au –delà des mois Septembres à Novembre (Hanzen et al, 1996).
- Type de vêlage : césarienne peut augmenter au –delà des 21 jours du post-partum le risque d'une infection utérine (Hanzen et al ,1996).
- Gémellité : la naissance de veaux jumeaux accroît au cours de 21à30 jours le risque des métrites (Hanzen et al, 1996).
- Rétention placentaire : c'est la troisième phase de la parturition, elle peut présenter 6 à 9 fois de risque d'infection utérine (Hanzen, 2009).

Le retard d'involution utérine : il existe une relation entre le retard d'involution et la présence d'une infection utérine.

3.4 Les facteurs déterminants des infections utérines

Les facteurs déterminants des infections utérines : dans les majorités des cas les infections utérines ne sont pas dues à des agents spécifiques.

Dans la majorité des cas, les infections utérines sont dues à des bactéries d'origines environnement dont la multiplication dans l'utérus. (Jean et al, 2011).

3.5 Facteurs liés à l'animal

3.5.1 Fécondité antérieure et antécédents pathologique

Les femelles possèdent un retard à l'expulsion des enveloppes sont les plus sujettes d'infection que les autres, donc une infection bactérienne très latente sans influence apparente sur la fécondité, est favorable à l'accroissement des bactéries dans l'utérus (Hanzen. ,2009).

3.5.2 Déséquilibre hormonaux et reprise de l'activation cyclique

La persistance d'une concentration élevée de progestérone, en raison d'un corps jaune favorise les endométrites (Serieys, 1997).

3.6 Facteurs liés à l'alimentation

3.6.1 L'état corporel

Au cours du vêlage, l'état corporel favorise l'apparition de risque des infections utérines (Hanzen et Houtain, 1996).

la fréquence des vêlages difficiles plus nombreux chez les vaches grasses que les vaches dont l'état corporel est normal et satisfaisant (Markusfeld, 1997).

3.6.2 L'alimentation

Il existait une preuve éclatante de l'importance de l'alimentation dans les phénomènes sexuels. Sous alimentation peut provoquée chez la femelle fécondée des troubles pathologiques du fœtus : mort, avortement, malformation et aussi retard la puberté (Steffan, 1987).

3.6.3 Les protéines

Les carences en protéines diminuent le nombre des phagocytes et la mobilité en direction des antigènes (Bencharif et Tainturier, 2003).

Parmi les protéines indispensables : les acides aminés surtout la lysine, tryptophane , thréonine et leucine (Wattellicr, 2010).

3.6.4 Les vitamines

La vitamine A agit sur les réactions de l'utérus aux infections pour la constitution de lysosome et complément (WATELLIER, 2010).

Les vitamines B et C sont utiles à la synthèse des anticorps.

La vitamine E intervient dans les mécanismes de défense de l'utérus, notamment contre les stress oxydant (Ducreux, 2003).

3.6.5 l'oligo-élément et les minéraux

La carence en magnésium influence à la phagocytose .il est nécessaire à l'opsonisation. Hypocalcémie est un agent de retard l'involution utérine chez les vaches.

L'excès de phosphore peut provoquer une chute de calcium et donc abaissement de l'involution utérine (Watellie, 2010).

4. Les méthodes diagnostiques

Il existe des nombreux techniques peuvent être employées pour diagnostiquer les métrites de la vache, soit par des méthodes macroscopique classiques soit par des méthodes modernes (Deguillaume, 2010).

4.1 Palpation transrectale

La palpation transrectale est une technique la plus utilisé en Médecine bovine.il donne des informations de la cyclicité, pathologie du post-partum et aussi la gestation.

Dans cette exploration, on utilise les gans d'examen en film plastique (Yanitz et al, 2002).

4.2 Examen général

L'examen général est une bonne technique pour l'identification des métrites aigue (Scott et al, 2006).Dans cette technique, on utilise un Metrichek.

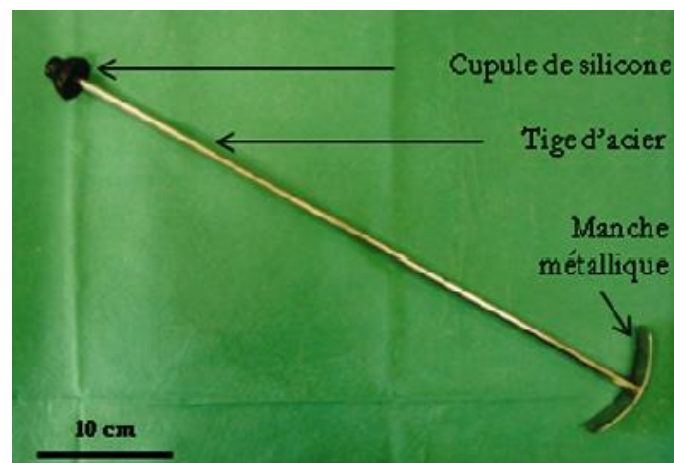


Figure 06. Sonde intravaginale Metrichek (Deguillaume2009)

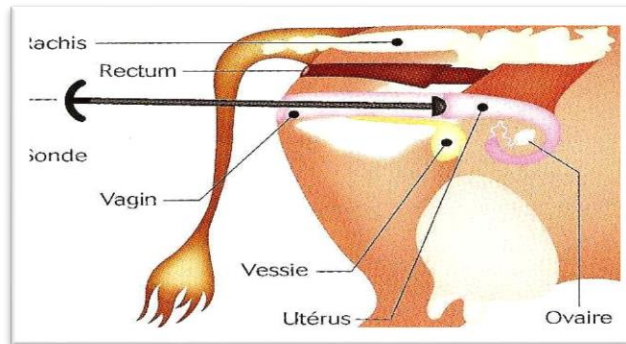


Figure 07. principe de la mise Metrichick (MEE, 2007).

4.3 Examen échographique

L'échographie est l'outil le plus précis d'évaluation du tractus génital de la vache, elle est utilisée pour l'identification des structures ovariennes et détermine le meilleur moment pour l'insémination et avec plus de précision par rapport à la palpation transrectale (Foldi et al, 2006).

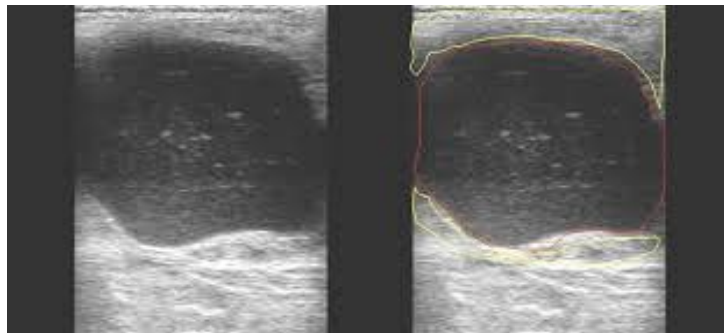


Figure. 08 image échographique de l'endomètre (la ligne jaune identifié les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine distendue) (Hanzen, 2009).

4.4 Examen cytologique

Le diagnostic cytologique réalisé par le prélèvement des cellules qui présentés dans les muqueuses endométrial à l'aide d'une cytobrosse. il présente une plus grande répétabilité que celui effectuée à partir de liquide de drainage de la cavité utérine (0.85 vs 0.76) (Barlund et al, 2008).



Figure 09. cytobrosse (Deguillaume,2007).

5. Traitement des germes pathogènes

L'objectif du traitement est l'amélioration des performances de reproduction (Feldman *et al*, 2005). Il est probable que l'efficacité du traitement passe par l'élimination des germes et la suppression du processus inflammatoire, donc l'obtention d'une guérison clinique (Sheldon *et al*, 2006).

5.1 Les antibiotiques

En 1994, SUTTON a comparé le taux de guérison chez des femelles traitées avec un antibiotique à celui des vaches recevant un placebo. Deux semaines après le traitement (soit six semaines après le vêlage), le taux de guérison des femelles traitées était significativement supérieur; dans le lot témoin, le taux « d'autoguérison » était de 35% (Sutton *et al*, 1994). Le traitement avec des antibiotiques efficaces accroît donc le taux de guérison des vaches souffrant d'endométrite chronique. Les antibiotiques sont généralement administrés par voie systémique ou sont perfusés directement dans la lumière utérine (Palmer, 2003).

5.2 Les hormones

5.2.1 Les prostaglandines

Les prostaglandines sont des acides gras insaturés, dérivées de l'acide arachidonique et possédant 20 atomes de carbone.

Le traitement hormonal offre une autre option dans le protocole thérapeutique. L'effet désiré de l'utilisation d'hormones est d'augmenter les contractions utérotoniques permettant l'expulsion et/ou de provoquer un état oestrogénique.

La PGF et ses divers analogues ont été utilisés généralement pour le traitement de la métrite du post-partum (Palmer, 2003).

5.3 Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des molécules utilisées classiquement pour diminuer et contrôler les effets de l'inflammation. Ils agissent principalement contre le mécanisme de formation des prostaglandines, qui sont parmi les principaux médiateurs de l'inflammation (Watellier, 2010).

5.3.1 Limitation des ressources de germes

Il faut diminuer le nombre de malades mais aussi agir sur l'environnement. Il faut ainsi prendre en compte la conception des bâtiments, avec une maternité et une infirmerie, pour éviter toute dissémination des germes responsables de métrites chroniques (Watellier, 2010).

5.3.2 Limitation de la transmission des germes

Il faut limiter les facteurs de transmission en respectant au maximum les mesures d'hygiène lors du vêlage qui doit se dérouler dans une maternité. De plus, il faut aussi veiller à l'hygiène des manipulations et du matériel, en appliquant des règles strictes d'asepsie lors des interventions gynécologiques, que ce soit à la délivrance manuelle ou à l'examen vaginoscopique (Watellier, 2010).

Partie expérimentale

Matériels
&
Méthodes

1 Matériel et Méthode

1.1 Matériels et réactifs

1.1.1 Matériel de laboratoire



Figure 10. Photos de Matériel utilisé. Réactifs

-Ecouvillons stériles-Anse de platine -Etuve –Balance

-Milieu de Mac Conkey

-Milieu de Chapman

-milieu Muller de Hinton

-bouillon nutritif

Les antibiotiques utilisés :

Tableau 1. Antibiotiques utilisés.

Symbole	L'antibiotique
<i>NA30</i>	<i>NALIDIXIC ACID</i>
<i>TE30</i>	<i>TETRACYCLINE</i>
<i>NV30</i>	<i>NOVABIOCIN</i>
<i>Ox1</i>	<i>OXACILLIN</i>
<i>CAZ30</i>	<i>CETAZIDIME</i>
<i>Cs10</i>	<i>COLISTIN SULFATE</i>
<i>MTZ5</i>	<i>METRONIDAZOLE</i>
<i>BA10</i>	<i>BACITRACIN</i>
<i>C30</i>	<i>CHLORAM PHENICOL</i>
<i>CT10</i>	<i>COLISTIN</i>

2 Démarche expérimentale

2.1 Prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés sur des vaches de race *Holstein* en *postpartum* (21 et 35 jours après mise bas) et présentant des défauts de cyclicité d'origine pathologique.

Les différentes analyses microbiologiques ont été effectuées dans le laboratoire de microbiologie de la faculté SNV et se sont étalées sur une période de 15 jours (allant du 15 Avril jusqu'au 02 Mai).

Il convient de préciser que les prélèvements cytologiques de la muqueuse endométriale sont réalisés selon la méthode de Deguillaume, (2010) qui consiste à utiliser une *cytobrosse* dont on a coupée sa tige plastique et a été ensuite insérée dans un pistolet d'insémination artificielle avec le strict respect des conditions d'asepsie et un simple frottis réalisé est étalé sur une lame permet d'obtenir un échantillon de la muqueuse utérine destiné à l'analyse.

A cet effet, sept (07) prélèvements cytologiques ont été réalisés dans deux endroits différents du tractus génital des femelles choisies : 03 échantillons exactement du col de l'utérus et 04 de l'intérieur même de l'utérus (intra-utérins).



Figure 11. Les échantillons prélevés

2.1.1 Conservation

Les échantillons ont été conservés à environ 4°C, entre le prélèvement et la réception au laboratoire (utiliser des glacières et des agents réfrigérants ou de la glace) (C.E .A.E, 2006).

2.2 Préparation des frottis

Dans des tubes à essai nous avons versé 9 ml de bouillon nutritif, les échantillons ont été introduits dans la solution pour créer un enrichissement et incubés à 37°C pendant 24h (Carr et al. 2002).

2.3 Préparation des milieux de culture

2.3.1 Milieu de Chapman

Le milieu de *Chapman* est un milieu sélectif, utilisé en microbiologie, permet la croissance des germes halophiles parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries *Gram+*, la forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les *staphylocoques* (BIO-RAD ,2007).



Figure 12.préparation de milieux de culture Chapman.

2.3.2 Milieu de Mac Conkey

Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram - *Salmonella* et *Shigella* grâce à l'action des deux inhibiteurs le cristal violet et les Sels biliaires, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques (Biokar ,2009).

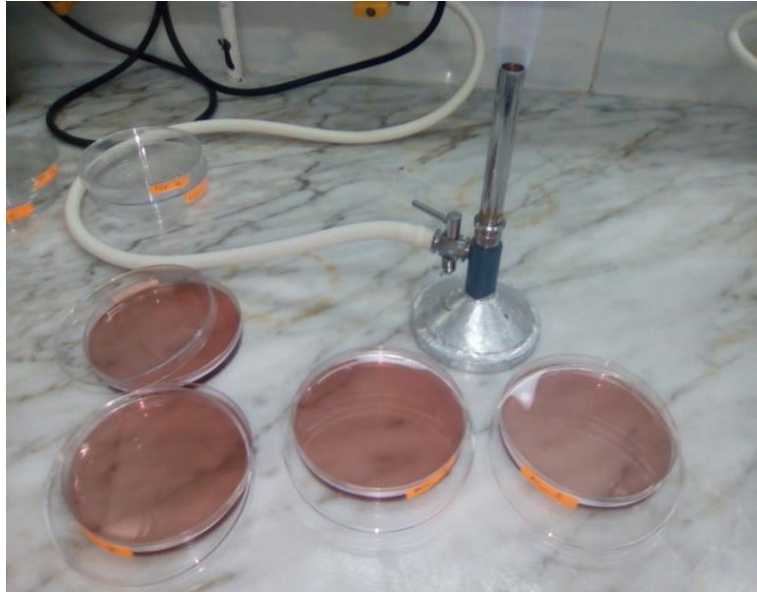


Figure 13 .préparation de milieux de culture Mac Conkey.

2.4 Purification

Un repiquage a été réalisés 4 fois afin d'obtenir un milieu précise des colonies.

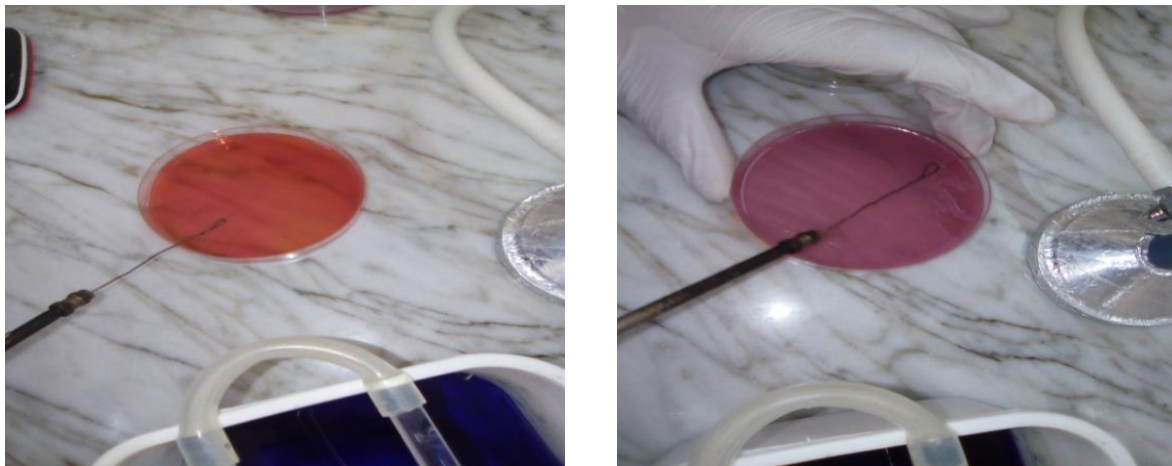


Figure 14.Action de purification des colonies.

2.5 Identification des souches

Identification des souches à été réalisé sur la base de la coloration de *Gram* et des tests biochimiques et des tests classiques.

2.6 La coloration de gram

La coloration de Gram permet de différencier des bactéries Gram + à celles des *Gram* –sur la base de fixation du violet de gentiane elle doit permettre de montrer la forme et la couleur de colonies fixées sous microscope optique.

Un frottis de colonie à tester fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de gentiane* et rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules *Gram+* violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la *fushine* pour colorer les cellules gram- présentes.

Après un bref rinçage, on sèche le frottis ; on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement X 100) (Singleton, 1999).

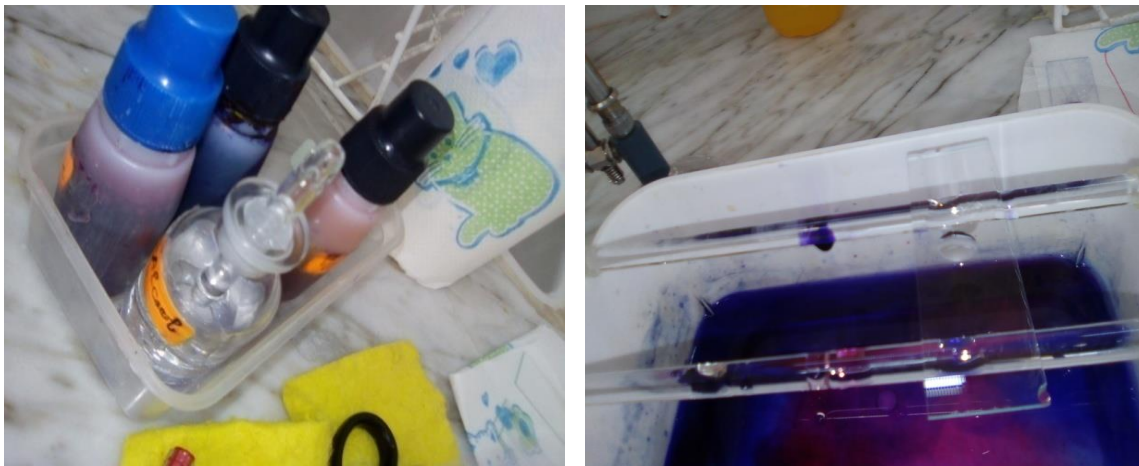


Figure 15. les différentes étapes de la coloration de Gram.

2.7 Les tests biochimiques



Figure 16. Tests biochimiques

2.7.1 Test de fermentation de la Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Milieu mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.

On a ensemencé les souches étudiées dans le milieu par piqûre centrale, et incubé à 37°C pendant 18 à 24h. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (Marchal et *al*, 1991).

2.7.2 Test de citrate de Simmons

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone: le citrate.

repose sur l'aptitude de certaines bactéries à pouvoir d'utiliser citrate de Simmons comme seule source d'énergie pour développer dans ce milieu. la pente du milieu est ensemencée selon une strie longitudinale et incubé à 37°C pendant 24h.

- Citrate-positif : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).

- Citrate-négatif : pas de culture (le milieu reste vert) (Marchal et *al*, 1991).

2.7.3 Test décarboxylase ODC, LDC, et des di hydrolase ADH bactérienne.

Ce test généralement utilisé pour identifier les espèces appartenant à la famille Entérobacteriaceae (cas des bacilles *Gram* - à métabolisme fermentatif), qui facilite la recherche de la lysine décarboxylase (*LDC*), de l'ornithine décarboxylase (*ODC*) de l'arginine (*ADH*). On fait l'ensemencer chaque milieu avec colonie de suspension bactérienne et incubé pendant 24h à 37 °C.

2.7.4 Test TSI (*triple Sugar Iron*)

Ce test permet d'identifier les entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation de 3 sucre et la production de gaz.

On prélève une colonie bactérienne à l'aide d'anse de platine piquer le culot du tube avec l'anse puis effectuer des stries sur la pente et incubé à 37°C pendant 24h.

La Fermentation des sucres se traduit par une coloration de la gélose en jaune.

La Production du gaz se manifeste par des craques dans la gélose (le Minor et Richard 1993).

2.8 Antibiogramme :

2.8.1 La standardisation :

À l'aide d'une anse de platine prélever un ou deux colonies parfaitement identique et bien isoler.

-dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9/ ensemencer les colonies puis homogénéiser bien la suspension bactérienne, qui doit équivalant à 0.5 Mc Ferland.

2.8.2 Etude de la sensibilité des souches antibiotique

La sensibilité des souches est réalisé par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur milieu Mueller Hinton, les disques ont été disposés respectivement sur la surface de la gélose (Jehl et al. 2000).

L'ensemencement doit s'effectuer juste après la préparation de l'inoculum sur le milieu Mueller Hinton devant un bec benzoin trempé un écouvillon stérile dans l'inoculum.

L'écouvillonnage et l'étalonnage de toute la gélose doit se faire du centre vers le bord jusqu'à l'ensemencement de la totalité de la surface. Ensuite Nous avons appliqué les 5 disques d'antibiotiques sur chaque boîte de Pétri dès que possible à moins de 15 minutes après l'ensemencement à l'aide d'une pince stérile et on a Incubé les boîtes à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et comparés aux diamètres critiques.



Figure 17.Réalisation de l'antibiogramme.

L'organigramme suivant résume la démarche adoptée :

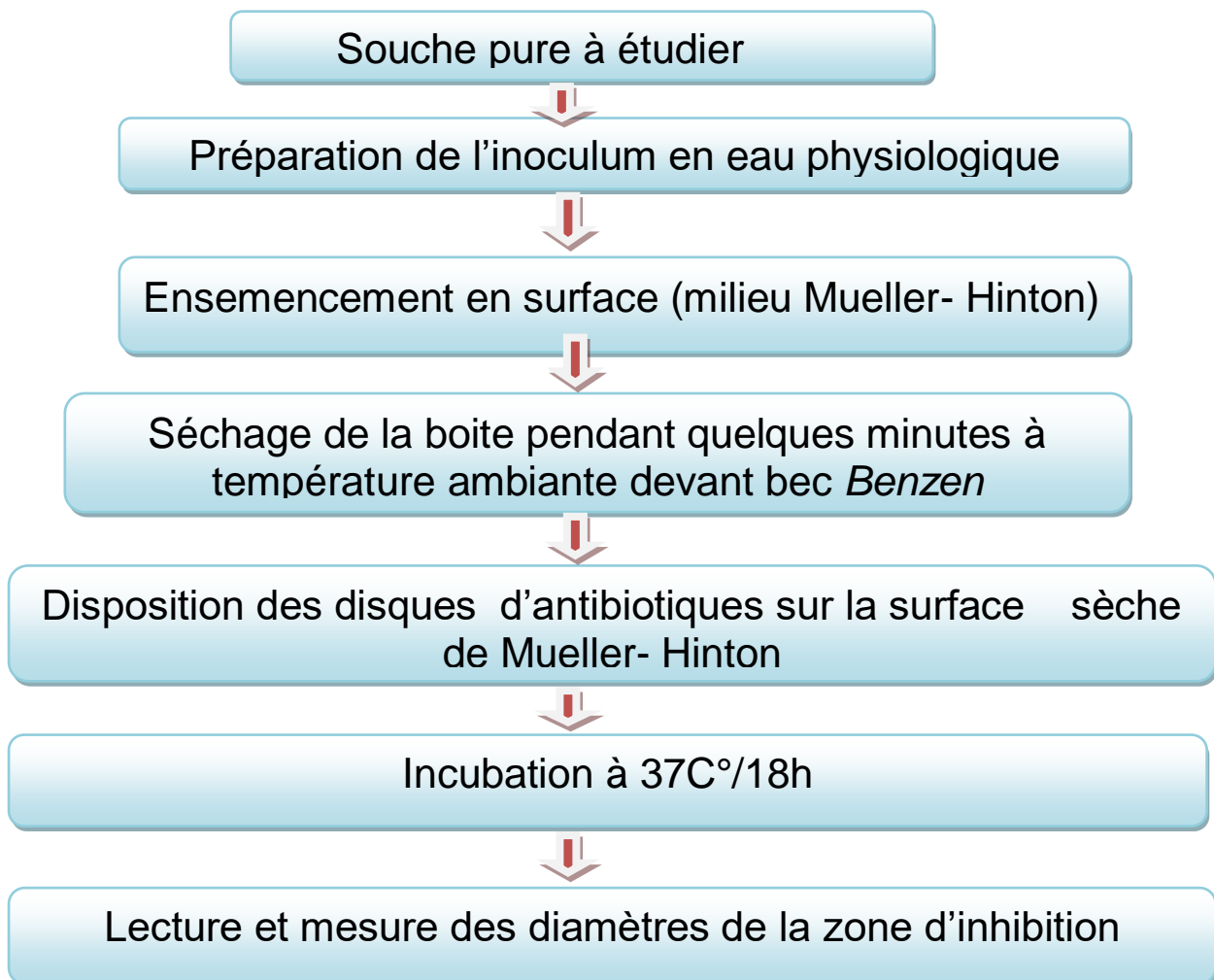


Figure 18.étapes de l'antibiogramme (Roland, 2006).

Résultats

&

Discussion

3 Résultats

Observation macroscopique et microscopique des cultures obtenues après isolement et purification

Les sept échantillons prélevés (4 du col de l'utérus et 3 de la muqueuse utérine) sont incubés pendant 24 h dans des bouillons nutritifs après cette opération on a procédé à un ensemencement dans les milieux de culture (*Chapman* et *MacConkey*) (tab.2).

A l'issue de cette culture, on a observé uniquement la germination de 3 cultures. Cependant le reste au nombre de 21 n'a pas manifesté de développement.

Tableau 2. Lieux de prélèvement et milieux de culture.



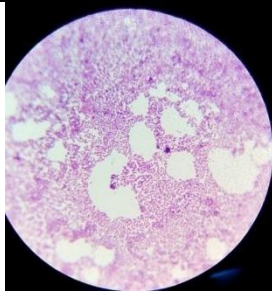
Echantillon	Lieu du prélèvement	Milieu de culture	Température d'incubation
E 1	Col de l'utérus	<i>Macconkey</i>	37°C (Pendant 24h)
E 2	Intra-utérin	<i>Chapman</i>	

3.1 Echantillon 1

le prélèvement réalisé du col de l'utérus, d'une vache de race pie rouge *Holstein* est ensemencé sur gélose *Macconkey* (c'est un milieu de culture utilisé pour le dépistage de la bactérie *Gram-*) puis cultivé à 37°C pendant 24h puis cultivé à 37°C pendant 24h en conditions aérobies.

Les bactéries sont ensuite identifiées selon différents critères : aspect, coloration obtenue (coloration de *Gram*) et la morphologie (tab.3)

Tableau 3.Aspect macroscopique et microscopique des isolats (grossissement x 100).

Echantillon (1) Souche	Coloration du <i>Gram</i>	Aspect microscopique	Genre soupçonné
 Sur la gélose <i>Macconckey</i>	 Lame	 coques <i>Gram</i> – en amas	<i>Escherichia coli</i> La couleur : rose La forme: des coques

3.1.1 Identification biochimiques des isolats

Après observation macroscopique et microscopique (et pour des raisons pratiques)

Différents tests biochimiques ont été réalisés. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.Les résultats des tests biochimiques échantillon(1).

<i>Macconkey 1</i>	Couleur d'origine	Couleur change	résultat
<i>TSI</i>	Marron	jaune	-
<i>Mannitol mobilité</i>	Rouge	jaune	+
<i>Citrate De Simmon</i>	Vert	Bleu	+
<i>LDC</i>	Violet	Viole	+
<i>ODC</i>	Violet	jaune	+
<i>ADH</i>	Violet	jaune	-

3.1.2 Résultats des tests biochimiques :

3.1.2.1 Croissance sur le milieu mannitol-mobilité

Le milieu se présente sous forme de gélose du mannitol.

- Si le milieu prend une coloration jaune : la bactérie est mannitol +.
- Si le milieu reste rouge: la bactérie est mannitol -.

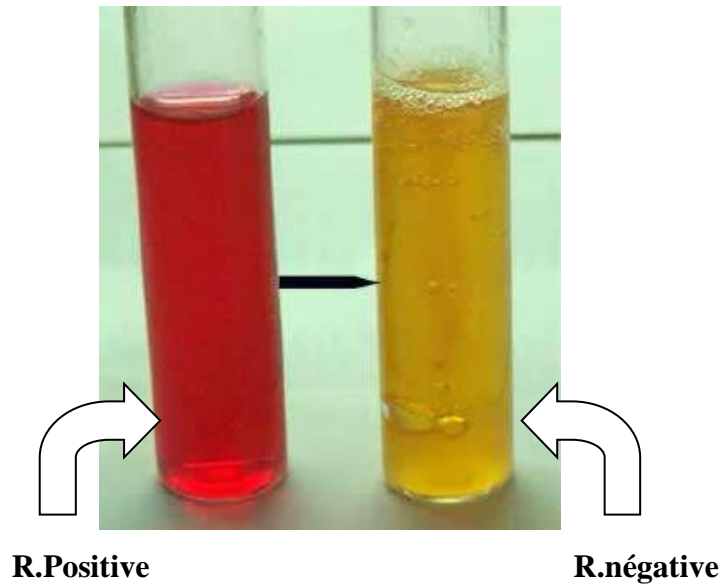


Figure 19. Test Mannitol-Mobilité.

On révèle un changement de la couleur du rouge vers le jaune pour la souche E. coli c'est à dire que cette souche est mobile.

3.1.2.2 Utilisation du citrate sur le milieu au citrate de Simmons

La pente du milieu estensemencée par une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie (Fig.).

- Citrate-positive: alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate-négative: pas de culture (coloration

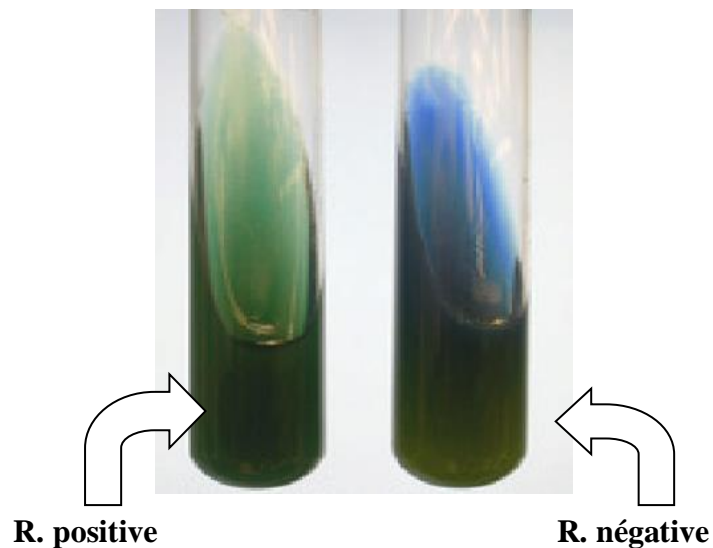


Figure 20. Test Citrate de Simmons.

On remarque le virement de couleur du vert vers le bleu pour la souche *E. coli* ce qui indique qu'il s'agit bien d'une souche *Gram-*.

3.1.2.3 Test TSI (Triple Sugar Iron)

A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on a inoculé le culot en effectuant une strie sinueuse. L'incubation est réalisée à 37° C pendant 48 à 72 h. Les résultats sont présentés comme Suit :

- TSI positive: (virage de l'indicateur au jaune).
- TSI négative: pas de changement de la coloration .

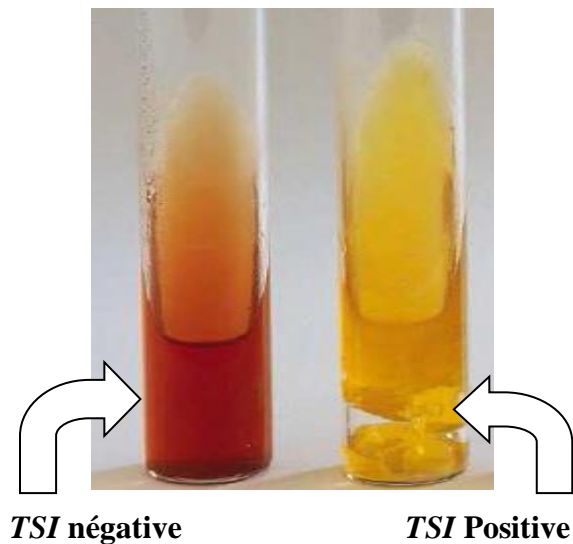


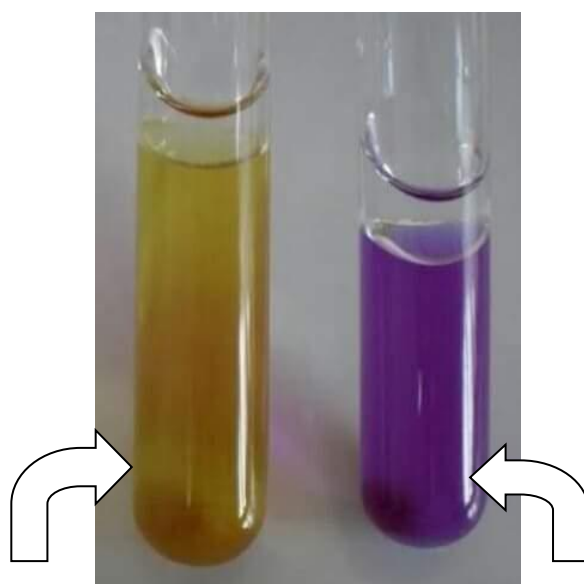
Figure 21.Test TSI.

On remarque le changement de la couleur du marron vers le jaune pour la souche *E. coli* (gram-)

3.1.2.4 Recherche des décarboxylases LDC, ODC et ADH

Les enzymes arginine déshydrolyase (ADH), lysine décarboxylase (LDC) et ornithine décarboxylase (ODC) catalysent respectivement la décarboxylation de l'arginine, de la lysine et de l'ornithine présentes dans le milieu. Cette dégradation aboutit à la formation de produits basiques. L'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette). On opère en milieu contenant une faible concentration de glucose.

- Test positif (couleur violette)
- Test négatif (virage de la couleur au jaune)



R.Négative

R.positive

Figure 22 .Test de Recherche des décarboxylases ADH, ODC et LDC..

Ces tests utilisés pour le diagnostic des souches *Gram-* On remarque un changement de la couleur pour les deux test décarboxylases *ODC ,ADH*

3.1.3 L'antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou antibiogramme selon la technique d'écouvillonnage (tab 5)

Tableau 5.Résistance des bactéries aux antibiotiques.

Antibiotique	NA30	C30	CAZ30	BA10	NV30	CS10	CT10	MTZ5	TE30	OX
Distance (cm)	2.5	3	0	0	0	1.2	1.2	0	0	0

NA30 :NALIDIXIC ACID , TE30 :TETRACYCLINE , NV30 :NOVABIOCIN

Ox1 :OXACILLIN , CAZ30 :CETAZIDIME , CT10 :COLISTIN SULFATE

MTZ5 :METRONIDAZOLE , BA10 :BACITRACIN , C30 CHLORAM PHENICOL

CT10: COLISTIN

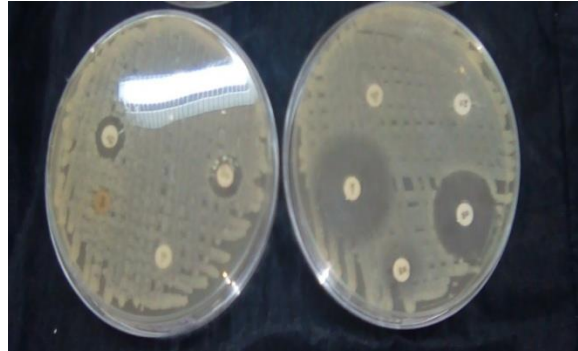


Figure 23. Disques d'antibiotiques testés sur une culture de gélos (Muller de Hinton)

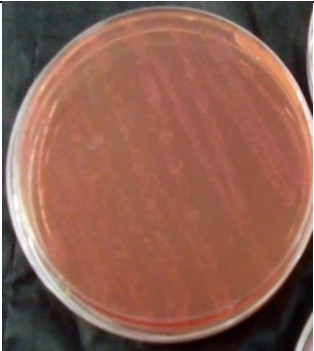

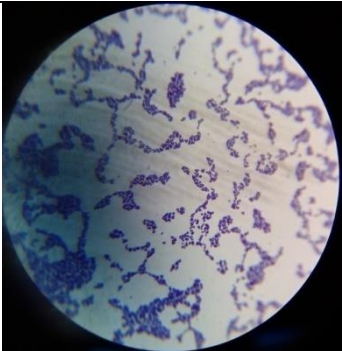
l'antibiotique le plus actif sur la souche *Escherichia coli* c'est C30 le CHLORAMPHENICOL qui prend la zone d'inhibition la plus grande (3cm).

3.2 Echantillon 2

le prélèvement du col de l'utérus d'une vache de race de pie rouge Holstein est ensemencé sur gélose *Chapman* (c'est un milieu de culture utilisé pour le dépistage de la bactérie Gram+) puis cultivé à 37°C pendant 24h en Conditions aérobies (échant 2)

La bactérie est ensuite identifiée selon différents critères : leur aspect, sa coloration obtenue (coloration de *Gram*) et sa morphologie.(tab6)

Tableau 6. Aspect macroscopique et microscopique (grossissement x 100) des isolats.

Echantillon (2) Ensemencé	Coloration <i>Gram</i>	Aspect microscopique	Genre soupçonné
 Sur la gélose Chapman	 Lame	 <i>Bacilles Gram + en amas</i>	<i>Staphylocoque</i> La couleur : violet La forme: <i>des bacilles</i>

3.2.1 Identification biochimiques des isolats

Après observation macroscopique et microscopique (et pour des raisons pratiques)

On a réalisé les différents tests biochimiques(tab7).

Tableau 7.Résultats des tests biochimiques (échantillon n° 2)

<i>Chapman T2</i>	Couleur d'origine	Couleur change	résultat
<i>TSI</i>	marron	marron	-
<i>Mannitol mobilité</i>	rouge	jaune	+
<i>Citrate De Simmon</i>	vert	vert	-
<i>LDC</i>	violet	jaune	-
<i>ODC</i>	violet	violet	+
<i>ADH</i>	violet	violet	+

3.2.2 L'antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou antibiogramme selon la technique d'écouvillonnage (tab 8).

Tableau 8.Résistance des bactéries aux antibiotiques

Antibiotique	NA30	C30	CAZ30	BA10	NV30	CS10	CT10	MTZ5	TE30	OX
La distance (cm)	0	2.7	0	0	3	0	0	0	0	0

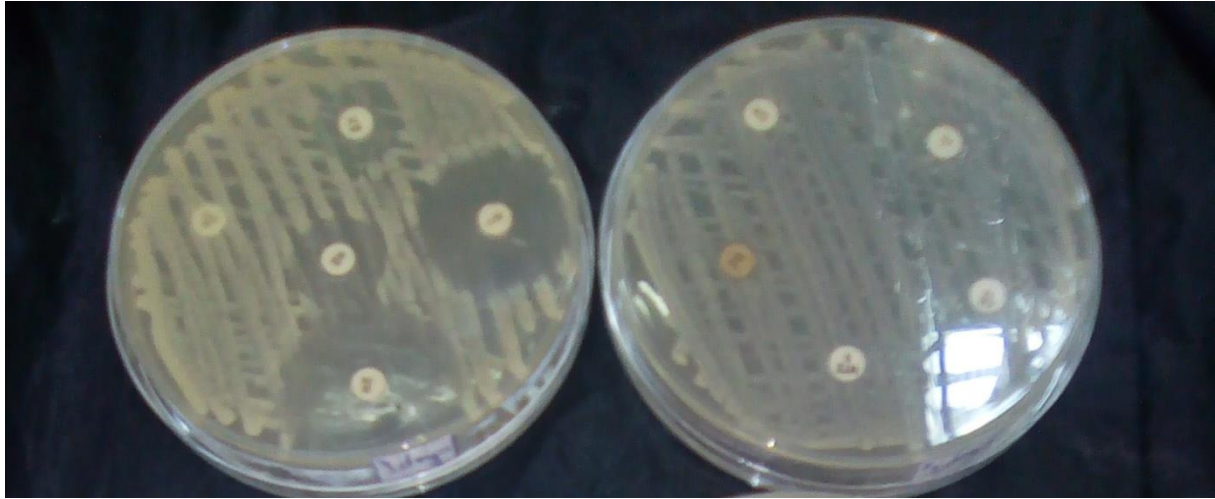


Figure 24. Disques d'antibiotiques testés sur la culture de gélose Muller de Hinton.

L'antibiotique le plus actif sur la souche *Staphylocoque* c'est **NV30** : *NOVABIOCIN* qui prend la zone d'inhibition la plus grande (3cm).

Les tests biochimiques nous ont permis d'identifier quelques isolats ce qui nous a mené à déterminer les microorganismes dominants supposés responsables de l'endométrite. Ainsi nous avons noté que les germes les plus dominants sont : *Staphylocoque* et *Escherichia. Coli*

4 Discussion

Rappelons que l'endométrite est une infection utérine qui affecte la santé de l'animal et a un impact négatif sur les performances reproductives de la vache. Cette pathologie est souvent récalcitrante aux différents traitements antibiotiques et reste l'une des causes majeures de réforme dans les élevages de bovins laitiers.

Les conséquences majeures de cette maladie sont la baisse de la production laitière et une diminution des performances subséquentes en reproduction (Sheldon et al, 2001; Leblanc et al, 2002; Sheldon et al., 2002a; Azawi, 2008).

De nombreuses causes ont été associées à l'endométrite postpartum; mais une des causes importantes est la contamination de l'utérus par certaines espèces bactériennes spécifiques pendant et après le vêlage (Földi et al, 2006; Sheldon et al, 2006). Parmi ces espèces bactériennes, *Escherichia coli*, et *staphylocoque* sont de loin les plus fréquemment retrouvées dans l'utérus des vaches présentant les signes cliniques de la métrite postpartum (Sheldon and Dobson, 2004; Földi et al, 2006).

Ce travail a pour objectif l'isolement et l'identification des germes responsables de l'endométrite bovine par l'analyse bactériologique de la muqueuse utérine de vaches présentant des problèmes de cyclicité qui peut être éventuellement liée à une pathologie de l'endomètre.

Cette étude se propose d'identifier les germes par différents tests biochimiques qui peuvent être à l'origine de cette pathologie par une analyse microbiologique d'échantillons prélevés de la matrice utérine de vache éventuellement atteinte. D'un autre côté un antibiogramme est réalisé pour déterminer l'antibiotique de choix pour le traitement de cette pathologie.

A cet effet, la coloration de Gram est une technique qui permet de différencier les bactéries Gram + à celle des Gram –sur la basse fixation du violet de gentiane de façon à mettre en évidence la forme et la couleur des colonies fixées l'observation microscopique a révélé la présence de deux souches bactériennes : *Escherichia coli* (Gram-) et *staphylocoque* (Gram+)

En l'occurrence, l'identification de ces souches est réalisée par le biais des tests biochimiques en utilisant un milieu dit *TSI (Triple Sugar Iron)* utilisé pour l'indication des bactéries Gram- par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène nos observations sont en accord avec les travaux de Berche et al, (1988) , qui dans des tests réalisés sur la

souche d'*Escherichia coli* ont constaté la fermentation du lactose, du saccharose et du glucose avec production de gaz et ont remarqué aussi un changement de couleur du marron vers le jaune ; ces réactions confirment bien qu'il s'agit de bactéries Gram- .

Il est à signaler que pour la souche Gram+ aucune changement de couleur n'a été observé.

Par ailleurs, un autre test réalisé sur *E. coli* dans le milieu de citrate de *Simmons* qui un milieu synthétique où la seule source de carbone est le citrate a révélé un changement de couleur du vert vers le bleu le virement de couleur confirme que cette souche bactérienne est une *Gram-* .En effet cette souche a la capacité de croître en présence de citrate comme seule source de carbone et d'alcaliniser le milieu, , il y a croissance et le milieu s'alcalinise et cela se traduit par le virement de la couleur .Ces constatations sont confirmés dans les travaux de plusieurs auteurs (Sylla, 2005 ; Ying *et al*, 2009 ; Nkang *et al*, 2009 ; Zarei *et al*, 2010).

Le même test a été réalisé sur la souche bactérienne *staphylocoque* ou aucun changement de couleur n'a été observé.

Par ailleurs, un autre test a été réalisé (fermentation du mannitol) dans le but de vérifier la mobilité de la souche bactérienne. La fermentation du mannitol se traduit par une acidification du milieu par un virage de l'indicateur coloré du pH (le rouge de phénol) vers le jaune, (Nkang *et al*, 2009).

Les mêmes réactions indiquées ci-dessus ont été constatées dans nos essais ce qui confirme que les souches d'*Escherichia coli*, et de *staphylocoque*, ont utilisé le mannitol comme source de carbone et d'énergie pour leur prolifération.

D'autre part et en ce qui concerne le test de mobilité il ressort de notre étude que les deux souches (*Escherichia coli* et de *staphylocoque*) ont présenté une mobilité. Ces résultats sont corroborés par les études de Dhayanithi *et al*. (2010) et Zarei *et al*, 2010 ; Catherine *et al*., (1999).

Ce test est un bon moyen de contrôle pour les bactéries appartenant à la famille des *Gram-*, car elles sont toutes oxydases négatives par le virage de la couleur du violet vert le jaune.

Les constatations obtenus à la suite de la réalisation de ce test sont conformes à ceux rapportés par Le Minor *et al*, (1989) et Dhayanithi *et al*, (2010). La souche de *staphylocoque* a donné une réaction fortement positive par rapport au test d'oxydase. Cela est dû au fait qu'elles possèdent un cytochrome oxydase qui catalyse la réaction d'oxydation du cytochrome C par l'oxygène moléculaire. Ce cytochrome oxydase intervient dans la chaîne respiratoire des staphelocoque. Ainsi, le cytochrome oxydase oxyde le cytochrome C qui va, à son tour, oxyder le tétraméthyl-1,4-phényle diamine, substrat qui prend une coloration violet foncé (pas de changement de la couleur).

Les tests effectués ont confirmé la présence de germes dans les échantillons analysés et après avoir identifié les souches bactériennes responsables de l'endométrite, un antibiogramme a été réalisé pour tester la sensibilité des ces souches bactériennes aux différents antibiotiques. Ainsi l'antibiotique dit *Novobiocine* a exercé une action bactériostatique contre la souche staphylococcique par contre Ronald, (2006) dans ses travaux a constaté que cette souche est très sensible à la *Vancomycine* qui a un effet bactéricide. D'un autre coté le *chloramphénicol* appliqué sur *Escherichia* s'est montré plus efficace contre cette souche. Alors que Aforcopibio, (1995) a montré que l'*Amoxicilline* et la *Mecillinam* sont plus efficaces contre *E. Coli*.

Au terme de cette discussion nous pouvons dire que ce travail est une contribution à l'enrichissement des connaissances déjà existantes dans le domaine des pathologies utérines bovine. Enfin, il convient de signaler que certains paramètres n'ont pas pu être traités dans cette étude faute d'indisponibilité de certains réactifs nécessaires pour d'autres tests biochimiques.

Conclusion

Conclusion

L'endométrite est une pathologie fréquente dans nos élevages; son étiologie est très large et les pertes économiques qu'elle engendre peuvent être importantes pour l'exploitation, notamment, une baisse dans la production laitière (respect du délai d'attente suite à un traitement antibiotique) et l'altération des paramètres de la fertilité de la vache, ce qui se traduit par un allongement de l'intervalle vêlage - première insémination; vêlage – insémination fécondante ; augmentation du nombre de services dans la majorité des cas et par conséquent l'objectif d'avoir un veau par vache / an sera compromis et enfin la complication pouvant conduire à la réforme de l'animale.

En effet, la mauvaise hygiène dans les étables (ce qui est très fréquent dans nos élevages) augmente le risque d'exposition à la pression microbienne chez la vache au cours du *post partum*, étant donné que la béance du col favorise la contamination de l'appareil génital par les bactéries de l'environnement.

Il ressort des résultats de l'analyse microbiologique de quelques échantillons de la muqueuse endométriale de vaches atteintes de cette pathologie a révélé la prédominance de souches Staphylococcique à l'intérieur de la muqueuse utérine et *E.coli* notamment dans le col de l'utérus.

Au terme de cette étude nous pouvons dire que ce travail est une contribution en vue d'enrichir l'état des connaissances sur cette pathologie et il est recommandé que ce travail peut être élargie en multipliant le nombre d'échantillons à analyser et aussi par des études comparatives entre espèces, races et dans des conditions d'élevage différentes.

A la lumière de ces résultats et dans la perspective de minimiser l'incidence de cette pathologie sur l'élevage la prévention s'avère nécessaire par la bonne maîtrise des conditions hygiéniques dans toutes les étapes de production et de reproduction animale. En outre la surveillance régulière du cheptel par des médecins vétérinaires, le contrôle microbiologique régulier, l'élaboration de programmes de formation et de sensibilisation des éleveurs sur la gravité de cette pathologie peuvent être d'un apport non négligeable pour atténuer l'impact négatif de cette infection.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Agon S. I. A., Olowo P. P. 2012.** Détermination des espèces et profils de résistances aux antibiotiques des souches de Staphylocoques isolées d'échantillons pathologiques au CNHU-HKM. Mémoire de fin de formation pour l'obtention du diplôme de licence professionnelle. École Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC). Bénin.53p.
- Azawi, O. I. 2008.** Postpartum uterine infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 105:187-208.Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., et *al.* (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology.* Williams & Wilkins. Baltimore. 787 p.
- Ball P.H et peters A.R, 2004** - *Reproduction in cattle.*3rd Edition, Blakwell Publishing.
- Barlund CS, caruuthers TD ,waldner CL, palmer cw.2008.**a comparison of diagnostic technique for pastpartum endometritis in dairy cattle *berriogenology*,69,714-723.
- BARONE R., 1978** - Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 3, Splanchnologie, Fascicule 2, appareil uro-génital fœtus et ses annexes.
- Barone, R. (1990).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. (2 e éd.)
- Bencharif D., TAITURIER., 2003-**les facteurs étiologiques des métrites chroniques .l'action, vétérinaire, 1638,21-25.
- Berche P., Gaillard J.L., Simonet M. (1988).** Bactéries des infections humaines. Flammarion Médecine-Sciences. p. 100-545.
- Bicalho, R. C., V. S. Machado, M. L. S. Bicalho, R. O. Gilbert, A. G. V. Teixeira, L. S. Caixeta and R. V. V. Pereira. 2010.** Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine Escherichia coli. *J. Dairy Sci.* 93:5818-5830.
- Biokar. (2009).**Gélose de Mac Conkey. www.solabia.com
- Bio-rad. (2007)** Chapman - mannitol sait agar. www.afnor-validation.org
- Blanc sj, duffied tf., leslie ke, bateman kg., keefe gp walton js., Johnson wh. (2002)-** Defining and diagnosing postpartum clinical endometrites and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J.DAIRY SCI.*, 85(9), 2223.36.
- Carr F.J. ,hill D maida N 2002.** The lactic acid bacteria :Aliterature survy.*Crit.Rev.Microbiol.*28,281-370.
- Catherine A.M., Robert B. (1999).** Genomic rearrangements in the flagellin genes of *Proteus mirabilis*. *Molecular Microbiology.* 31 (2) : 679–690.

- Deguillaume L (2007)**-Etude comparative des différentes techniques de diagnostic des métrites chroniques Chez la vache (10,17).
- Deguillaume L, Chastant-Maillard S. (2009)** Comment bien diagnostiquer les endométrites de la vache ? *Bull. GTV*, 49, 101-105.
- Deguillaume L. (2010)** L'inflammation génitale post-partum de la vache. *Thèse Doc., Agro Paris Tech.*, 206 p.
- DE MOUY D., LEPARGNEUR J. P., AURIOL J. C., BANDLER H., LARRIBET G., DECLERCQ G., ARMENGAUD M. et les membres de l'AFORCOPIBIO.** Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires en pratique de ville de **1986 à 1993**. - *Méd. Mal. Infect.*, 1994; numéro spécial: 539-42.
- Dhayanithi N.B., Ajith Kumar T.T., Kathiresan K. (2010).** Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. *Journal of Environmental Biology*. 31:409-412.
- Dohmen, M. J. W., K. Joop, A. Sturk, P. E. J. Bols, and J. A. C. M. Lohuis. 2000.** Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology* 54:1019-1032.
- Ducreux p., 2003**-les séléniums chez les bovins : rôles med.vet. Lyon n46, 146p.
- Du Douet C, 2004**-la production des bovins allaitants ,2ème éditions, p135.
- Foldi, J., M. Kulcsar, A. Pecci, B. Huyghe, C. de Sa, J. A. Lohuis, P. Cox, and G. Huszenicza. 2006.** Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 96:265-281.
- Feldmann, M., Tenhagen genannt Emming, S. et Hoedemaker, M. (2005).** [Treatment of chronic bovine endometritis and factors for treatment success]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 112(1), 10-16.
- Jean.marie gourreau et françois schelcher, 2011** ouvrage collectif :guide pratique des maladies des bovis.
- Joffin J.N., Leyrol G. (2006).** Microbiologie technique. Tome1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux : CRDP d'aquitaine. 363 p.
- Hanzen C., houtain J-Y., Laurent Y-et Coll., 1996**-influence des facteurs individuels et de troupeau sur les performances de reproduction bovine .Le point vétérinaire, 28,172.
- Hanzen C.et Coll., 2003**-pathologie de reproduction des ruminants. Année 2003/2004

- Hanzen c et COLL ., 2009** pathologies de reproduction des ruminants .année 2008/2010
- Hanzen C, (2014)** .traitement des infections utérines chez la vache.vet Reco ,26.
- Lewis GS. (1997)** Health problems of the postpartum cow. Uterine health and disorders,(symposium). J Dairy Sci., 80(5), 984-94.
- LE Minor L., Veron N. (1989).** Bactériologie Médicale. *Flam Med. Science.* 333 : 773-823.
- Marchal N.,bourdon J.L.ET richard C.L.,1991.**Les milieu de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bacteries.Ed.Doin.65-49
- Markusfeldo, galnon et ezar.,1997**_body condition score,health yield and fertility in dairy cows ,veterinary heard,jul.19,141,67-72.
- Mee.J 2007** un nouvel outil pour diagnostiquer lendometrite.point veterenaire ., 247 ,14-15
- Nkang A.O., Okonko O.I., Fowotade A., Udeze A.O., Ogunnusi T.A., Fajobi E.A., et al. (2009).** Antibiotics susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *J. Bacteriol. Res.* 1 (8) : 89-96.
- Palmer. J, 2003**-La médecine vétérinaire des grands animaux rondes cliniques Octobre 2003, volume3 ,numéro8.
- Prère M.F., Licznar P., Decramer S., Fayet 0, (2004).** *Escherichia coli* des infections urinaires et pyélonéphrites aigus en pédiatrie: I % des souches sont résistantes à certaines céphalosporines de 3e génération. *Pathol. Biol.*, 52: 497-500.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., et al. (2003).** Microbiologie. 2ème édition. Boeck Université. 1099 p.
- Pavaux C. (1981)** Eléments d'anatomie : L'utérus de la vache. *Société Française de buiatrie*, Toulouse, 9-53, 355p.
- Roland A. (2006).** Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire Communautaire. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 131 p.
- Scott SM, dobberstein SE, wailes W. (2006)** use of rectal température monitoring to identify post-partum metritis in dairy cattle.J Anim Sci .
- Serieys F, 1997**-le tarissement des vaches laitires.
- Sheldon, I. M. and H. Dobson. 2004.** Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:295-306.
- Sheldon, I. M., G. S. Lewis, S. LeBlanc, and R. O. Gilbert. 2006.** Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65:1516-153.
- Sheldon IM, lewis G , le blanc S,gilbert RO .(2006)**-Definig postpartum utérine disease in cattle.theriogenology,65(8),1516-30.

- Sheldon IM . 2009**defining postpartum utérine disease the mechanisms of infection immunity in the female reproductive tract in cattle –bio reprod.
- Steffan., 1987**-application thérapeutique et zootechnique des prostaglandines f2 chez les bovines –rec .Méd.Vét ., 157(1) ,61-69. SERIEYS f, 1997 –le tarissement des vaches laitières.
- Sutton D., watson C.L., lohuis J.C.M., dohmen M.J.W., 1994**- Comparative clinical cure of subacute and chronic endometritis in dairy cows after intra-uterine infusion of either Metrijet SuperR or Metrijet 1500R , or after non treatment. Proceedings of the Vith International Congress of EAVPT, Edinburgh 107-108.
- Sylla M.B. (2005)**. Infections invasives à *Escherichia coli* dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré Bamako. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 58 p.
- Watellier P.,2010** -Etude bibliographique des métrites chroniques chez la vache ,thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur Vétérinaire ,103pp .Lyon ,France.
- Yanitiz J, Santoloria P, Lope Z-Gatius F. (2002)** surface alteration in the bovine pelvic peritoneum following rectal examinant of reproductive organs :a scanning electron microscopy syudy anat histol embryol.
- Ying T.C., Tsai L.L., Keh-Ming W., Jing-Jou Y., I.Wen H., Min-Chi L., et al. (2009)**. Genomic diversity of citrate fermentation in *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Microbiology*. 168 : 1-9.
- Zarei M., Aminzadeh S., Zolgharnein H., Safahieh A., Ghoroghi A., Daliri M., et (2010)**. *Serratia marcescens* B4A chitinase product optimization using Taguchi approach. *Journal of biotechnology*. 8 (4) : 252-262.