

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE**

**PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR VETERINAIRE**

SOUS LE THEME

DIAGNOSTIC CYTOLOGIQUE DES ENDOMETRITES CHEZ LA VACHE LAITIERE

PRESENTE PAR:

Mlle: Safi Sarah

ENCADRE PAR:

Dr. Adnane Mounir



Sommaire

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE I : INVOLUTION UTERINE ET REPRISE DE LA CYCLICITE OVARIENNE DU POST-PARTUM | 5 |
| A. L'involution utérine normale :..... | 5 |
| 1. Utérus involuè : | 5 |
| 2. Evolution de l'utérus au cours du post-partum : | 5 |
| 2.1. Aspects macroscopiques : | 5 |
| 2.2. Aspects microscopiques : | 6 |
| 2.3. Evolution de l'infection au cours du post-partum..... | 7 |
| 3. Imprégnation hormonale de l'utérus et son involution | 8 |
| B . La reprise de la cyclicité suite au vêlage :..... | 10 |
| 1. Mécanismes :..... | 10 |
| 2. Facteurs influençant la durée de l'anoestrus du post-partum :..... | 12 |
| C. Les défenses de l'utérus à l'état physiologique :..... | 14 |
| 1. Les défenses mécaniques | 14 |
| 2. Les défenses biologiques..... | 15 |
| 2.1 Les facteurs cellulaires :..... | 15 |
| 2.2. Les facteurs humorales :..... | 16 |
| 3. Les défenses hormonales : | 16 |
| D. modifications de défenses de l'utérus suite à une infection utérine : | 17 |
| CHAPITRE II : ETUDE CLINIQUE DES ENDOMETRITES | 19 |
| A. Définition des différents types des infections utérine | 19 |
| 1. Métrites aigue (puerpérale) : | 19 |
| 2. Métrite clinique : | 19 |
| 3. Endométrite clinique : | 19 |
| 4. Endométrite subclinique : | 23 |
| 5. Pyomètre : | 23 |
| B. Etio-pathogénie des endométrites :..... | 23 |
| 1. Les facteurs déterminants..... | 23 |
| 1.1. Les différents pathogènes impliqués : | 23 |
| 1.2 La relation entre les agents pathogènes et les signes cliniques :..... | 26 |
| 1.3 La synergie entre les agents pathogènes des endométrites chroniques : | 26 |
| 1.4 Mécanismes de virulence des pathogènes impliqués : | 28 |
| 2. Modulation de l'activité des PN : | 29 |

| | |
|--------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE III : DIAGNOSTIC CYTOLOGIQUE DES ENDOMETRITES | 30 |
| A. Importance du diagnostic des endométrites : | 30 |
| 1. Impact des endométrites : | 30 |
| 2. Méthodes de diagnostics utilisées :..... | 31 |
| 2.1. Examen transvaginal..... | 31 |
| 2.2. Examen échographique | 32 |
| 2.3. Examen bactériologique..... | 33 |
| 2.4. Examen histologique | 33 |
| 2.5. Examen cytologique | 34 |

Résumé

L'endométrite est responsable de troubles de la fertilité dans de nombreuses espèces notamment la vache.

La cytologie utérine est en cours de validation. Le prélèvement des cellules endométriales s'effectue par lavage ou écouvillonnage utérin. Le taux de granulocytes neutrophiles sur le frottis est utilisé pour détecter l'endométrite, mais il n'existe aucun consensus sur le seuil à partir duquel l'on considère que l'affection est présente. La cytologie cervicale est peu employée et semble peu informative, alors que la cytologie endométriale est un examen valable au regard des performances de reproduction et de l'histologie.

La validation de la cytologie endométriale pour le diagnostic de l'endométrite et la connaissance de ses variations physiologiques, ainsi que la détermination d'un seuil positif, nécessitent davantage d'exploration chez la vache.

Introduction

L'endométrite est une dominante pathologique du post-partum (PP) chez la vache. L'inflammation de l'endomètre, souvent associée à une infection utérine, se traduit par un afflux de leucocytes à la surface de la muqueuse utérine. Cette manifestation est visible sur un examen cytologique de l'endomètre. Ce type d'examen est classiquement employé chez le jument mais chez la vache il n'est évalué que depuis quelques années.

En effet, chez la vache, sa réalisation est plus difficile pour des raisons anatomiques ; les seuils de positivité de la cytologie demandent encore à y être validés.

Le but de cette thèse est, dans un premier temps, de réaliser une étude bibliographique sur l'infection utérine notamment l'endométrite. Le second objectif c'est de détailler la technique de la cytologie utérine qui représente la seule technique permettant le diagnostic de la forme subclinique des endométrites.

CHAPITRE I : INVOLUTION UTERINE ET REPRISE DE LA CYCLICITE OVARIENNE DU POST-PARTUM

A. L'involution utérine normale :

C'est la phase pendant laquelle le volume de l'utérus diminue après le part pour gagner sa taille initiale.

1. Utérus involuè :

L'involution utérine se définit comme étant le retour de l'utérus à son poids et à sa taille normaux après la parturition, c'est à dire à un état pré-gravidique autorisant à nouveau l'implantation de l'œuf fécondé.

C'est à la fois un phénomène dynamique et complexe impliquant plusieurs facteurs qui progressent simultanément aux différents niveaux de l'utérus. Elle se caractérise par des modifications anatomiques, histologiques, cytologiques, bactériologiques et métaboliques.

Les masses caronculeuses formant la partie maternelle du placenta doivent involuer, les tissus fœtaux sont éliminés et les mécanismes de défense contre l'infection sont optimisés, durant cette période d'évolution nécrotique.

2. Evolution de l'utérus au cours du post-partum :

2.1. Aspects macroscopiques :

L'involution macroscopique de l'utérus chez la vache est complète en trois à quatre semaines postpartum (figure 1).

Si les ovaires sont palpables dès le quatrième jour, par voie transrectale, il est possible, d'une main, d'entourer l'utérus vers les 15-17ème jours. La réduction de la taille de l'utérus est rapide entre le 10ème et le 14ème jour, simultanément à une augmentation de la tonicité des parois de l'organe.

Un mois après vêlage, l'utérus pèse environ un kilogramme, il pèsera autour de 900 grammes une vingtaine de jours plus tard. La corne précédemment gravide restera distendue. Sa longueur avoisinera les trente centimètres et présentera un diamètre de 4 centimètres (deux travers de doigts) 40 à 50 jours après vêlage (Badinand et Barlet, 1977).

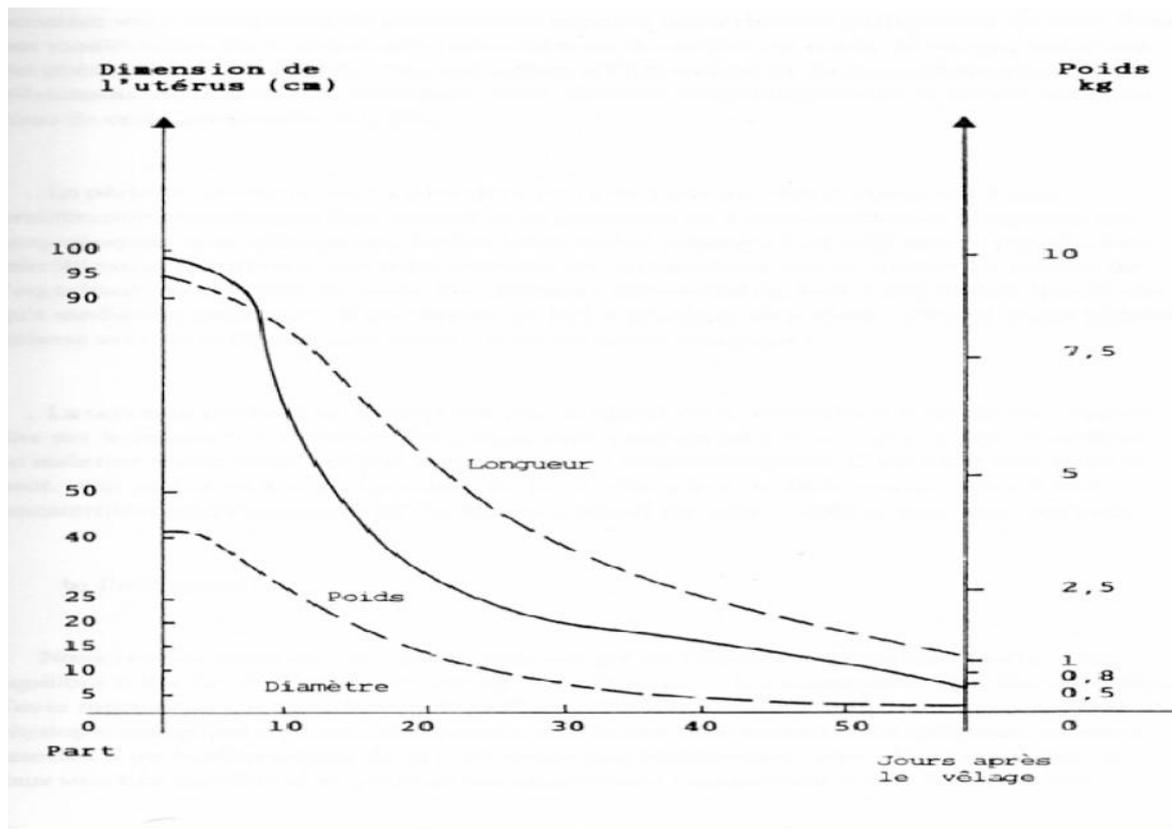


Figure 1 : Modifications du poids et des dimensions de l'utérus après le part (Gier et Marion, 1968)

L'involution du col est l'étape la plus tardive dans ce processus, il est impossible de le palper avant le 20-25ème jour, à ce moment le diamètre du col est plus important que celui de la corne précédemment gravide (Arthur et al., 1983). Sa préhension est normale à partir du 30ème jour, et il doit être à ce moment mobile et souple. Son involution ne sera complète que vers le 50ème jour, le retour à une structure histologique normale demande une vingtaine de jours supplémentaires (Marion et al., 1968).

2.2. Aspects microscopiques :

- Destruction endométriale : nécrose et phagocytose

Dès le premier jour après la parturition, les artères cotylédonnaires dégénèrent et se nécrosent : ceci provoque la nécrose de toute la partie superficielle du cotylédon, qui se desquame vers le 10ème jour et est éliminée avec les lochies.

L'utérus est alors assuré par les cellules de l'endomètre elles-mêmes, mais aussi par les nombreux leucocytes qui envahissent la lumière des cryptes maternelles, sans doute attirés par des substances leucotactiques synthétisées par le tissu caronculeux, telles que le leucotriène B4 (Slama, 1996).

Il est donc intéressant de constater qu'un flux très important de cellules leucocytaires, neutrophiles, plasmocytes, lymphocytes envahissent les caroncules même au cours du déroulement normal de l'involution utérine, laquelle est assimilée à une réaction inflammatoire subaiguë (Slama, 1996).

Chez les vaches cliniquement normales, le nombre de neutrophiles périphériques augmente au cours des 10 à 15 derniers jours de la gestation et diminue ensuite durant les 7 premiers jours post-partum. L'activité phagocytaire de ces neutrophiles augmente avant la parturition, diminue brusquement lors du vêlage puis augmente pendant les 14 premiers jours post-partum (Cai et al, 1994). Elle est capitale pour la destruction des tissus endométriaux, mais aussi pour l'élimination de l'infection bactérienne du contenu utérin, systématique en post-partum.

- Régénération de l'épithélium endométrial

L'endomètre subit un double phénomène de dégénérescence puis de régénération. Parallèlement à la disparition de l'épithélium « gestatif », apparaît un nouvel siège d'une intense activité phagocytaire, épithélium, dès les premiers jours après la parturition, qui finit par recouvrir tout l'endomètre y compris les caroncules.

Cette épithélialisation est complète en 25 à 30 jours, mais d'un point de vue histologique, il faudra attendre la 8ème semaine post-partum pour obtenir une involution histologique complète (Gier et al, 1968).

2.3. Evolution de l'infection au cours du post-partum

Les bactéries, absentes au moment du vêlage spontané, trouvent dans le contenu utérin un milieu favorable à leur multiplication. De la deuxième à la cinquième semaine, Luginbühl et Küpfer (1980) mettent en évidence une infection dans 31% des utérus lorsque l'involution est normale, dans 51% des cas lorsqu'elle est retardée.

La différence entre involution normale et retardée est la même pour tous les autres auteurs, mais avec une fréquence de l'infection plus élevée.

Par exemple, pour Buchholtz et al. (1979), lorsque l'involution est retardée, 80% des utérus sont infectés de la deuxième à la quatrième semaine. Même lorsque l'involution est normale, l'infection touche 93% des utérus durant les quinze premiers jours et encore 9% à la fin du deuxième mois pour Elliott et al. (1968).

La concentration bactérienne passe par un maximum vers le 9ème jour et s'annule à partir de trois semaines dans la plupart des cas. La population bactérienne varie d'un moment à l'autre, par élimination et réinfection successives.

Les bactéries mises en évidence sont variées, les plus fréquentes étant des *Streptocoques*, des *Staphylocoques*, des *Proteus*, *Escherichia coli* (Buchholtz et al., 1979). Lors de retard de l'involution on trouve aussi des *A. pyogenes* et des anaérobies Gram- (Tableau 1).

Tableau 1 : Influence de l'involution utérine sur l'infection utérine post-partum chez la vache (Buchholtz et al., 1979)

| Bactériologie positive à | Involution normale | Involution retardée |
|--------------------------|--------------------|---------------------|
| 2 semaines | 2/8 | 18/20 |
| 3 semaines | 11/51 | 39/51 |
| 4 semaines | 7/34 | 8/10 |
| TOTAL | 20/84=24% | 65/88=74% |
| dont | | |
| <i>A.pyogenes</i> | 2=10% | 33=51% |
| anaérobies | 6 | 30 |
| streptocoques | 6 | 12 |
| autres | 11 | 22 |

Il existerait même une relation inverse entre l'infection par *E.coli* et par *A.pyogenes* (Holt et al., 1989), la présence du premier pouvant être considérée comme favorable et celle du second défavorable à l'involution utérine.

La stérilisation du contenu utérin se fait grâce aux cellules phagocytaires (Vandeplassche, 1976) et au retour du cycle sexuel ; elle est atteinte dans la plupart des cas en trois semaines (Kudlac et al., 1970).

3. Imprégnation hormonale de l'utérus et son involution

Rôle des hormones stéroïdiennes :

Durant le postpartum existe une relation entre les taux plasmatiques d'œstradiol et de progestérone, en particulier par la survenue plus ou moins précoce de l'œstrus, mais cette relation n'est pas claire.

L'involution semble plus rapide chez les allaitantes que chez les laitières (Badinand et al, 1981), alors que le premier œstrus est beaucoup plus tardif : la reprise d'une activité

cyclique ovarienne normale ne semble pas indispensable à l'involution utérine (Wagner et Hansel, 1969).

Pour certains, la tétée accélérerait l'involution (Lynn et al., 1966), pour d'autres, au contraire, elle la ralentit (Wiltbank et Cook, 1958). L'ovariectomie pratiquée deux jours après le part ne retarde pas l'involution (Oxenreider, 1968). Chez la vache laitière, l'involution utérine n'est pas influencée par l'administration de stéroïdes exogènes sauf si le traitement débute dès le jour du vêlage et se poursuit plus de trois semaines. Dans ce cas, la progestérone allonge la durée de l'involution (Marion et al., 1968).

Dans les races à viande, les injections d'œstradiol, de progestérone ou des deux accélèrent l'involution utérine lorsqu'elles sont pratiquées quotidiennement pendant au moins dix jours. L'association oestro-progestatif serait plus efficace que la progestérone seule (Foote, 1960). Les résultats obtenus apparaissent ainsi contradictoires et il est impossible d'en tirer une conclusion générale.

Rôle des prostaglandines endogènes :

Deux familles de prostaglandines agissent sur l'utérus après le vêlage : les prostaglandines E2 et les prostaglandines F2 α . Ainsi, en post-partum, l'endomètre est le siège d'une sécrétion importante de prostaglandines des séries E2 et F2 α (Guilbault et al., 1984).

Les concentrations de PGF2 α augmentent dans les quelques jours précédant la mise-bas, présentent un pic 2 à 3 jours après le vêlage puis diminuent progressivement, tout en restant à un niveau élevé pendant 10 à 20 jours pour un post-partum normal (Guilbault et al., 1984 et Lindell et al., 1982).

La synthèse de diverses prostaglandines est perturbée par l'infection, qui est très généralement associée avec une période de libération massive et prolongée de PGF2 α et de PGE2 (Risco et al., 1994 et DelVecchio et al.1994), malgré quelques résultats inverses (Archbald et al., 1998 et Vighio et al., 1991). Cette libération prolongée de prostaglandines pourrait être une réponse de l'endomètre à sa lyse sous l'action des bactéries et/ou à une absorption de toxines bactériennes (Slama, 1996).

Les vaches atteintes d'infection utérine présentent un rapport PGF2 α /PGE2 20 fois plus faible que des animaux normaux (Slama et al., 1991). Or la PGE2 présente une activité anti-inflammatoire, immunosuppressive (diminution de l'immunité systémique, réduction de la transformation lymphoblastique locale, diminution de la concentration en immunoglobulines dans les sécrétions utérines, Slama et al., 1991) et souvent inhibitrice des contractions utérines.

Par contre la PGF2 α stimule la motricité utérine et est plutôt pro-inflammatoire. Cette diminution du rapport PGF2 α /PGE2 est donc plutôt favorable au développement d'une

infection et au retard d'involution utérine, d'où l'intérêt thérapeutique potentiel d'une administration de prostaglandines F2 α lors de métrite.

B . La reprise de la cyclicité suite au vêlage :

La durée de l'anoestrus post-partum est affectée par de nombreux facteurs environnementaux, génétiques, physiologiques et métaboliques mais également par l'involution utérine, le développement de follicules ovariens, les concentrations en hormone (Hafez, 1993).

1. Mécanismes :

Pendant la gestation, le taux élevé de progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et inhibe la libération de gonadolibérine (GnRH) provoquant un stimulus inadéquat pour maintenir les sécrétions de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) ou de l'hormone lutéinisante (LH) par l'hypophyse.

Ainsi, les vagues folliculaires annihilés pendant le dernier mois de gestation reprennent après le part. La concentration plasmatique de progestérone tombent à un niveau basal, la concentration plasmatique de FSH augmente dans les jours qui suivent la mise-bas, autorisant la reprise de la croissance folliculaire jusqu'à la dominance.

Chez la vache laitière, la reprise de la cyclicité est rapide, la première ovulation peut apparaître dès 15 jours après vêlage et à 41 et à 60 jours post-partum, 72,6 et 86% respectivement des femelles sont cyclées (Mialot J.-P. et Chastant S., 2001).

Lors d'un cycle sexuel, on peut observer 2 à 3 vagues de croissance folliculaire terminale. Chaque vague est la résultante de 3 phases successives :

- le recrutement : cela concerne les follicules qui ont atteint une taille suffisante de l'ordre de 2mm.
- la sélection : 1 à 3 follicules continuent la croissance (2 à 10 mm), et les autres subissent l'atrésie.
- la dominance : c'est le plus gros follicule (8,5 à 10 mm) qui sera le seul capable de continuer sa croissance et d'inhiber les autres follicules qui subissent l'atrésie.

Le déterminisme complexe de cette croissance semble s'effectuer en deux phases. La première, débutant lors de l'entrée en croissance à partir de la sortie du stock des follicules primordiaux jusqu'à la taille de 5-6 mm, correspond à un développement continu ; elle est dite « gonado-indépendante ».

Ce sont essentiellement des facteurs intra-ovariens dont l'activine qui la contrôlent ; l'influence de l'alimentation et de l'état corporel avec leurs médiateurs semble essentielle sur cette période.

La seconde, « gonado-dépendante », correspond au développement cyclique des follicules de 5-6 mm jusqu'à l'atréisie ou l'ovulation. Les hormones hypophysaires gonadotropes sont indispensables ainsi que des facteurs produits localement dans les ovaires.

La phase de sélection est concomitante d'une baisse de la FSH et d'une élévation locale des œstrogènes. La variation des concentrations intra-folliculaires de certains stéroïdes et de facteurs de croissance conditionne l'évolution du follicule vers l'atréisie ou vers l'ovulation.

L'ovulation constitue donc l'aboutissement exceptionnel pour un follicule qui, après avoir été dominant, n'a pas subi l'atréisie.

Lors du post-partum, comme pour les génisses, la première ovulation est rarement accompagnée de manifestations œstrales, les pourcentages d'œstrus visibles augmentent lors des cycles ultérieurs et les premières phases lutéales sont plus courtes que lors de l'activité cyclique normale.

Les mécanismes qui conduisent au rétablissement de l'activité sexuelle après le vêlage peuvent se résumer de la façon suivante :

- modulation de la sécrétion de FSH ;
- augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pics de LH ;
- reprise de la croissance des gros follicules ;
- rétablissement du rétrocontrôle positif des œstrogènes.

Chez la vache laitière, le premier follicule dominant apparaît entre 5 et 39 jours après le vêlage; dans 75% des cas, il ovulera, 20% devenant kystiques et 5% subissant l'atréisie. En moyenne, la première ovulation apparaît vers 25 jours post-partum.

A l'automne, l'intervalle entre le vêlage et l'apparition du premier FD est court (7 jours en moyenne) et il est suivi d'un cycle de longueur normale ; en revanche, cet intervalle est plus long au printemps (20 jours) et il est suivi d'un cycle court.

Chez la vache allaitante, le premier follicule dominant apparaît également précocement mais seuls 10 à 20% ovuleront, il faut alors plusieurs vagues de croissance folliculaires pour aboutir à l'ovulation. L'intervalle vêlage-premier follicule dominant est plus long chez les primipares (43 jours) que chez les multipares (14 jours). Ainsi, l'anoestrus vrai que l'on rencontre fréquemment chez la vache allaitante à la suite d'un vêlage d'hiver est davantage lié à une absence d'ovulation du follicule dominant plutôt qu'à une absence de croissance folliculaire.

Au cours de la gestation, les vagues de croissance folliculaires peuvent se poursuivre en particulier au début de la gestation, pendant les deux premiers mois, malgré l'inhibition de la sécrétion des hormones hypophysaires (Mialot et al., 2001).

2. Facteurs influençant la durée de l'anoestrus du post-partum :

• *La tétée*

De nombreuses études ont montré que la survenue de l'ovulation est retardée chez les vaches qui allaitent leur veau par rapport aux vaches qui sont traitées.

Dans une étude sur 2364 vaches, Peters et Riley (1982), montrent que 80% des vaches laitières sont cyclées 30 jours post-partum et 95% sont cyclées 60 jours post-partum. Par contre, les vaches allaitantes ne sont cyclées en moyenne que 60 jours après vêlage.

Le fait de retirer le veau ou de l'empêcher de téter raccourcit la période d'anoestrus. La mastectomie raccourcit également la durée de l'anoestrus post-partum (Short et al., 1972). La tétée joue un rôle essentiel pour retarder l'ovulation du follicule dominant, suite à une inhibition de la sécrétion de LH en relation avec les peptides opioïdes endogènes (Mialot et al., 2001).

• Le niveau de production laitière

Une relation entre haut niveau de production laitière et fertilité dégradée a été rapportée (Carman, 1955). Cependant, là où certains auteurs ont noté une relation entre le niveau de production et la date de survenue de la première ovulation, d'autres n'ont pas trouvé de relation entre ces deux paramètres.

Des périodes d'anoestrus plus longues ont été observées chez des vaches sélectionnées pour leur haut niveau de production laitière par rapport à des témoins (Eley et al., 1981). Les kystes ovariens ont également été rencontrés plus fréquemment chez les hautes productrices (Peters et Ball, 1995).

Cependant, il est difficile de séparer les effets du niveau de production laitière et d'autres paramètres tels que le statut nutritionnel. Ainsi, une vache haute productrice en début de lactation ne peut avoir une balance énergétique positive.

• *La nutrition et l'état d'engraissement*

L'impact de la nutrition a souvent perturbé les études sur l'influence de la tétée puisqu'il est difficile de déterminer précisément les besoins nutritionnels liés à l'allaitement. Mais un anoestrus post-partum long chez des vaches allaitantes peut être raccourci par un apport énergétique augmenté (Dunn et al., 1969).

Une alimentation carencée est une cause majeure d'anoestrus. L'apport énergétique semble plus important que l'apport protéique pour le maintien de la fonction de reproduction. Des

apports énergétiques faibles en pré et postpartum augmentent la durée de l'anoestrus postpartum ; il en résulterait un retard de la première vague de croissance folliculaire ainsi que plusieurs vagues non ovulatoires.

Le statut nutritionnel avant et au vêlage semble plus important qu'en post-partum puisque Peters et Riley (1982), en se servant du poids corporel en tant que paramètre pour suivre le statut nutritionnel, ont trouvé une corrélation négative significative entre le poids au vêlage et la longueur de l'anoestrus alors que le poids en post-partum n'a pas d'influence.

Bien que l'apport énergétique soit la cause la plus fréquente d'effets délétères sur la reproduction, la carence en d'autres nutriments tels que vitamines et minéraux semble affecter la fertilité (Roberts, 1971).

Un certain nombre d'études ont montré que des modifications nutritionnelles peuvent entraîner des modifications dans la sécrétion des gonadotropines. Par exemple, les pics de LH sont d'amplitude plus réduite chez des vaches hypoglycémiques (Rutter et Manns, 1987).

Des études ont montré l'implication de l'IGF1 dans l'interaction entre nutrition et reproduction. Rutter et Manns (1988) ont montré que la concentration plasmatique en IGF1 est augmentée chez des vaches allaitantes après administration de glucose et après le sevrage et également qu'une restriction alimentaire entraîne un abaissement de la concentration en IGF1. L'IGF1 a des effets directs sur les cellules de la granulosa (Adashi et al., 1985).

L'insuline pourrait avoir des effets au niveau de l'axe hypothalamo-pituitaire-ovarien. L'hormone de croissance pourrait également être impliquée dans la médiation des effets de l'alimentation sur la reproduction puisqu'il a été montré qu'elle augmente l'activité de la LH et l'induction de récepteurs à la LH et par conséquent la synthèse de progestérone.

• *La saison*

Dans les latitudes tempérées, il a été rapporté que l'anoestrus postpartum est plus long en hiver et au début du printemps (Thibault et al., 1966). De plus, les vaches qui mettent bas au printemps semblent présenter un anoestrus postpartum plus long que celles qui vêlent en automne (Peters et Riley, 1982).

La plupart des auteurs ont rattaché ce phénomène saisonnier à un impact de la nutrition, cependant, Peters et Riley (1982) ont montré un fort impact de la saison après avoir ajusté les effets de l'alimentation. De nombreuses espèces sauvages de bovidés sont saisonnées (Asdell, 1964), les changements dans la photopériode sont alors les signaux pour le début ou la fin de l'activité ovarienne. Peters et Riley (1982) ont montré une corrélation négative entre la photopériode en fin de gestation et la reprise de l'activité ovarienne en postpartum.

On pense donc qu'il reste un vestige de sensibilité à la photopériode chez les ruminants domestiques.

- *L'involution utérine*

L'infection utérine retarde la mise en place d'une cyclicité normale : tout d'abord, en retardant le début de la folliculogénèse (Peter et Bosu, 1988). Les endotoxines peuvent également perturber le déroulement normal de la croissance folliculaire, en bloquant la synthèse d'œstradiol, inhibant la décharge de LH et augmentant ainsi l'incidence des ovaires 20 poly-kystiques (Gröhn et al, 1990).

Une endométrite chronique peut donc retarder l'apparition du premier œstrus et on constate que les phases lutéales ne commencent que lorsque le taux de prostaglandines a atteint son niveau basal (Lewis et al, 1984 ; Lohuis et al, 1992).

La détérioration des conditions de vêlage, connue pour augmenter l'incidence des endométrites, entraîne également un retard à la reprise de la cyclicité post-partum (Humblot et Grimard, 1993). Enfin, les endotoxines des bactéries Gram- étant de puissants inducteurs de la libération de prostaglandines, un *E. coli* pathogène peut entraîner un raccourcissement du cycle par induction d'une lutéolyse prématurée (Gilbert et al, 1990 ; Peter et al, 1990).

Il existe une relation entre la sécrétion de prostaglandines au cours du post-partum et la reprise d'une cyclicité ovarienne normale : les niveaux de progestérone restent faibles au cours du post-partum immédiat et n'augmentent pas avant que la synthèse de prostaglandines ne cesse (Lindell et al, 1982).

A l'inverse, l'accumulation de pus dans la cavité utérine, caractérisant un pyomètre, peut provoquer une telle dégradation de l'endomètre que celui-ci n'est plus en mesure de synthétiser des doses lutéolytiques de prostaglandines : le pyomètre est alors associé à un corps jaune persistant, favorisant lui-même le développement de l'infection utérine (Lewis,1997).

Ainsi, nous avons vu que de nombreux facteurs ont une influence sur la reprise de la cyclicité en post-partum. Les plus importants sont la tétée et l'alimentation, ensuite, il est difficile de définir l'importance respective des autres facteurs dans la durée de l'anoestrus post-partum.

C. Les défenses de l'utérus à l'état physiologique :

1. Les défenses mécaniques

Lors de l'œstrus, les sécrétions épithélio-glandulaires de l'endomètre, très abondantes est associées a une activité contractile élevée, assurent une vidange utérine qui prévient l'ascension et la colonisation de l'utérus par des microorganismes.

Après le part, les contractions utérines éliminent le contenu de l'organe, en particulier les bactéries, le placenta et les débris cellulaires favorables au développement d'une infection.

La desquamation du stratum compactum agit comme un «décapant» de la portion de la paroi utérine susceptible d'être largement contaminée.

Enfin, le bouchon muqueux obstruant le col forme une barrière physique vis-à-vis des contaminations extérieures (Badinand, 1975).

2. Les défenses biologiques

L'utérus possède dans son stroma des cellules particulières, les granulocytes et d'autres provenant du sang : monocytes, plasmocytes, lymphocytes capables de réagir à l'infection soit en capturant les agents pathogènes, soit en élaborant des anticorps.

2.1 Les facteurs cellulaires :

2.1.1 ; Les neutrophiles et la phagocytose

La phagocytose est sans doute le moyen le plus actif contre l'infection utérine. Elle est assurée par les polynucléaires neutrophiles (PN), les monocytes, et les macrophages. Les PN jouent un rôle particulier dans l'inactivation et l'élimination des éléments étrangers. En effet, Dhalawal a observé une accumulation de PN dans l'utérus suite à une infection expérimentale par des suspensions bactériennes (Dhalawal et al., 2001).

De plus, même si le recrutement de PN est physiologiquement diminué dans la période peripartum, il a été montré que la quantité de PN recrutés dans l'utérus au cours d'une infection est corrélée avec la quantité de bactéries présentes (Zerbe et al., 2002).

Les neutrophiles quittent la circulation sanguine (phase d'adhésion aux cellules endothéliales) pour rejoindre le lieu d'infection (chimiotactisme, diapédèse). Sur le site d'infection, la phagocytose nécessite tout d'abord une phase d'adhérence entre le microorganisme et le neutrophile.

Les microorganismes sur lesquels se sont fixées des molécules du complément ou des anticorps (processus d'opsonisation) sont reconnus par les neutrophiles qui disposent à leur surface de récepteurs pour ces molécules. Les bactéries peuvent être alors digérées.

La destruction des microorganismes peut se faire par deux processus distincts : une voie oxydative (production par exemple de peroxyde d'hydrogène), ou une voie lytique grâce à divers peptides et enzymes tels que les défensines, le lysosyme ou la lactoferrine (Paape et al., 2000). Les cellules immunitaires détecteraient les composants bactériens tels les endotoxines ou les peptidoglycanes via des récepteurs appelés «toll-like». Cette reconnaissance induirait la libération en retour de cytokines tels le TNF α (Tumoral Necrosis Factor alpha) ou les interleukines IL1, IL6 et IL8 (Beutler et al., 2003).

Ces cytokines induiraient une hyperthermie contribuant à augmenter la mobilisation des cellules immunitaires et la synthèse hépatique de protéines inflammatoires (APP : Acute Phase Protéines) dont on connaît l'augmentation de concentration autour du vêlage et leur diminution progressive avec l'élimination des bactéries (Sheldon et al., 2001). Le processus est complexe puisque l'on a décrit une altération dans l'expression au niveau des neutrophiles de 14 gènes dans les jours qui suivent le vêlage (Madsen et al., 2002).

2.1.2 Les lymphocytes :

Les lymphocytes constituent une autre ligne de défense de l'utérus contre l'infection. La multiplication lymphocytaire diminue au cours des trois dernières semaines de la gestation puis augmente au cours des quatorze premiers jours suivant le vêlage (Saad et al., 1989).

Cette augmentation est moindre en cas de dystocie, situation connue pour favoriser la rétention placentaire et les infections utérines (Mc Evoy et Pollock, 1994). On peut donc penser que la synthèse d'immunoglobulines (IgA) par les lymphocytes se trouve réduite dans certaines situations de vêlage et rend ainsi l'animal plus sensible aux infections utérines.

2.1.3 Les cellules endométriales :

Les cellules épithéliales intra-utérines sont directement au contact des microorganismes qui ont pu envahir la cavité utérine. Elles constituent, de ce fait, un élément central dans les mécanismes de défense de l'utérus. Leurs fonctions sont complexes. Elles comprennent la présentation de l'antigène (Bondurant, 1999), le transport/sécrétion des IgA (Dhaliwal et al., 2001), la libération de cytokines, mais également la production de peptides dotés d'activité antimicrobienne, les défensines (Herath et al., 2006).

2.2. Les facteurs humorales :

Les immunoglobulines IgM, IgA et IgG, par simple diffusion ou par production locale, jouent un rôle important dans la protection de l'utérus (Duncan et al., 1973).

En effet, elles participent activement à l'opsonisation des bactéries, stimulent le complément et maîtrisent les agents pathogènes grâce aux récepteurs des cellules de l'endomètre.

D'autre part, Mestecky constate qu'il existe une différence de classe d'immunoglobulines en fonction de la partie du tractus génital femelle (Mestecky et al., 2005). Par exemple les IgG prédominent dans la lumière utérine et les IgA dans le vagin (Mestecky et al., 2005). Des essais de vaccination avec *Arcanobacterium pyogènes* ont montré une possibilité de traitement par cette voie (Nolte et al., 2001).

3. Les défenses hormonales :

Les œstrogènes et la progestérone ont un rôle complémentaire au niveau du tractus génital femelle. Il est établi que l'utérus est plus sensible à la contamination bactérienne lorsqu'il est sous influence de la progestérone plutôt que sous influence des œstrogènes. Ces observations ont été réalisées aussi bien pour des infections naturelles que dans le cadre d'infections expérimentales (Lewis, 2004).

De nombreux scientifiques ont étudié l'influence hormonale sur l'activité des PN. Leurs résultats tendent à indiquer que l'influence hormonale n'est pas majoritairement due à un effet sur la quantité ou l'activité des PN recrutés dans l'utérus (Winters et *al.*, 2003).

Les œstrogènes provoquent une hyperplasie de l'épithélium glandulaire, stimulent la vascularisation de l'endomètre (Noakes et *al.*, 2002) et augmentent la production de mucus et la motricité utérine. Si l'imprégnation oestrogénique, par rapport à la progestérone, est associée à une meilleure résistance de l'utérus vis à vis des infections, l'effet direct de l'œstradiol n'est en revanche pas clairement établi (Overton et *al.*, 2003).

De récentes publications laissent penser que la progestérone est la principale hormone ayant une influence sur l'augmentation de la susceptibilité de l'utérus aux infections. On peut ainsi noter au cours de la phase progestative, une perméabilité de l'épithélium vis-à-vis des bactéries. Le système phagocytaire n'étant pas sollicité à un stade suffisamment précoce, et une apparition trop tardive des leucocytes dans la lumière utérine, ne pouvant plus s'opposer à la multiplication des agents pathogènes. Les vaches sont résistantes aux infections en l'absence de progestérone et sensibles quand la concentration de celle-ci augmente (Lewis, 2004).

D. modifications de défenses de l'utérus suite à une infection utérine :

Environ 48 heures après un vêlage normal et non assisté, des leucocytes s'accumulent dans la lumière utérine parallèlement aux microorganismes contaminants. Ce fait constitue le commencement normal des processus de nettoyage et d'involution de l'utérus.

La contamination bactérienne non spécifique de l'endomètre induit un afflux de PN vers le stroma et la lumière utérine. Leur présence est indispensable pour limiter la colonisation bactérienne systématique au vêlage et lutter contre l'infection.

Chez les vaches cliniquement saines, le nombre de polynucléaires neutrophiles périphériques augmente au cours des dix à quinze derniers jours de la gestation puis diminue ensuite lors des sept premiers jours postpartum. Ces cellules leucocytaires sont les plus rapidement recrutées, en très grand nombre, depuis la circulation périphérique vers la lumière de l'utérus.

Parallèlement, leur activité phagocytaire au niveau utérin augmente durant la période qui précède la parturition, mais diminue brusquement au vêlage pour ensuite augmenter

progressivement pendant les quatorze premiers jours de la période postpartum (Cai et *al.*, 1994 ; Saad et *al.*, 1989 ; Zerbe et *al.*, 2000 ; Sheldon et Dobson, 2004).

Vers le dixième jour du postpartum, la couche nécrotique est envahie par des macrophages et des fibroblastes qui vont participer à la réorganisation tissulaire (Gier et Marion Amer, 1968). La régression et l'élimination des masses caronculaires sont terminées vers le douzième jour.

Entre le quatorzième et le vingt-et-unième jour du postpartum, les leucocytes continuent à migrer dans la lumière utérine et participent ce faisant à la résorption phagocytaire de la surface endométriale (Dolezel et *al.*, 1991 ; Rasbech Nord, 1950).

CHAPITRE II : ETUDE CLINIQUE DES ENDOMETRITES

A. Définition des différents types des infections utérine

1. Métrites aigue (puerpérale) :

La métrite puerpérale se définit comme une infection utérine se manifestant au cours des vingt-et-un premiers jours du postpartum. Encore appelée métrite aigue, lochiomètre, métrite «septicémique», métrite toxique, elle fait le plus souvent mais pas nécessairement suite à une rétention placentaire ou à un accouchement dystocique et se traduit habituellement par des symptômes généraux plus ou moins importants tels une perte d'appétit, une diminution de la production laitière, le maintien ou l'augmentation de la température au-dessus de 39,5°C.

L'écoulement brunâtre au début, devient purulent blanc jaunâtre, épais et malodorant voire couleur lie de vin en cas de métrite gangreneuse. Rarement discret, cet écoulement attire vite l'attention de l'éleveur car il souille la région génitale et s'accumule en plaques en arrière de la vache (Foldi et al., 2006 ; Paisley et al., 1986 ; Hussain, 1989 ; Hussain et Daniel, 1991 ; Lewis, 1997 ; Dohmen et al., 2000 ; Sheldon et Dobson, 2004 ; Sheldon et al., 2006).

2. Métrite clinique :

Il s'agit d'une infection semblable à celle de la métrite aigue sauf que les symptômes sont uniquement localisés au niveau de l'utérus. Dans cette infection l'étale générale de la vache est toujours conservé (sheldon et al., 2009)

3. Endométrite clinique :

L'endométrite clinique, dans sa forme classique, se caractérise par la présence d'écoulements muco-purulents (environ 50% pus et 50% mucus) (Figures n°2 et n°3) ou purulents (>50% pus) ; (Figures n°4, n°5 et n°6) dans le vagin, à partir de vingt-et-un jours postpartum. Ceci, en l'absence de tout autre signe clinique (Sheldon et Noakes, 1998 ; Le Blanc et al., 2002 ; Sheldon et al., 2006).



Figure n°2 : Ecoulement trouble (Hanzen, 2009)



Figure n°3 : Ecoulement mucopurulent (Hanzen, 2009)



Figures n°4 et n°5 : Ecoulement purulent (Hanzen, 2009)



Figure n°6 : Ecoulement purulent (Chakri, 2009)

4. Endométrite subclinique :

L'endométrite subclinique se traduit par la présence d'un état inflammatoire de l'endomètre en l'absence de sécrétions anormales dans le vagin. Elle apparaît après l'involution histologique complète de l'utérus.

L'état inflammatoire de l'endomètre n'est pas macroscopiquement décelable. Il implique le recours à un examen complémentaire visant à déterminer la quantité de neutrophiles dans la cavité utérine.

Le pourcentage de neutrophiles serait supérieur respectivement à 18 %, 10 %, 8 % et 5 % selon que les prélèvements utérins ont été réalisés vingt-et-un à trente-trois, trente-quatre à quarante-sept, vingt-huit à quarante-et-un ou quarante à soixante jours postpartum. Ce type d'infection se traduit par une diminution des performances de reproduction des vaches (Sheldon et *al.*, 2006 ; Kasamanickam et *al.*, 2004 ; Gilbert et *al.*, 2005 ; Foldi et *al.*, 2006 ; Parlevliet et *al.* 2006).

5. Pyomètre :

Le pyomètre correspond à l'accumulation de pus dans la cavité utérine. Cette accumulation est le plus souvent associée à un corps jaune fonctionnel et, en conséquence, à une fermeture complète ou partielle du col utérin. Elle apparaît habituellement après la première ovulation.

L'utérus se distend de plus en plus de façon uni ou bilatérale. L'écoulement purulent est plus ou moins permanent selon le degré d'ouverture du col. L'animal présente de l'anoestrus. L'épithélium et les glandes sont fibroses. Dans de plus rares cas, le pyomètre peut s'accompagner de répercussions sur l'état général (amaigrissement, péritonite...) (Noakes et *al.*, 1990 ; Foldi et *al.*, 2006 ; Bondurant, 1999 ; Sheldon et Dobson, 2004 ; Sheldon et *al.*, 2006).

B. Etio-pathogénie des endométrites :

1. Les facteurs déterminants

1.1. Les différents pathogènes impliqués :

Pendant la gestation, la lumière utérine est considérée comme un milieu stérile, mais après la parturition l'utérus est contaminé par des bactéries en provenance de l'environnement, de la région périnéale, de la peau et des fèces de l'animal. Le développement d'une infection utérine dépend alors de la balance entre les capacités d'auto-défense de l'utérus et la pathogénicité des bactéries.

De nombreuses études ont été consacrées à l'étude de la flore bactérienne du tractus génital au cours du postpartum et chez les «repeat-breeders». Les germes identifiés sont classiquement reconnus comme étant les facteurs déterminants responsables des infections utérines. Spécifiques ou non du tractus génital, ils sont de nature bactérienne ou virale.

De multiples bactéries commensales ou non du vagin, a Gram positif et a Gram négatif, aérobies ou anaérobies ont été identifiées avec une fréquence variable selon les auteurs, dans des prélèvements utérins effectués au cours des premières semaines suivant le vêlage. Parmi les plus fréquentes, il convient de mentionner *Streptococcus species*, *Clostridium species*, *Pasteurella species*, *Staphylococcus species*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides species* et *Proteus species*.

Les études menées par Huszencza et Dohmen comparent la bactériologie des vaches normales avec celles présentant une métrite chronique (Huszencza et al., 1999 ; Dohmen et al., 1995). Ainsi pour des cas de métrite chronique, jusqu'à 80% des vaches sont infectées par au moins une espèce anaérobie Gram négatif, et 65% par *A. pyogènes*. Pour des vaches normales à dix jours postpartum, ces mêmes pourcentages sont respectivement de 10 et 35%. On observe également la prépondérance des streptocoques chez les vaches normales (Tableau n°2).

Ces études et d'autres ont permis une classification des germes identifiés dans l'utérus au cours du postpartum chez la vache (Williams et al., 2005). Ainsi peuvent être qualifiés de pathogènes, *Arcanobacterium pyogenes* (*A.pyogenes*), *Prevotella spp.*, *Bacteroides spp.*, *Porphyromonas spp.*, *F. necrophorum*, *E. coli*. A l'inverse les germes suivants sont reconnus comme pathogènes potentiels ou simples opportunistes : *Peptostreptococcus spp.*, *Staphylococci spp.* *Streptococci spp.*, *Lactobacillus spp.* *Bacillus spp.*, *Proteus spp.*, *Clostridium spp.* (Tableau n°3).

Tableau n°2 : Fréquence (%) d'isolement de germes chez des vaches à métrites chroniques et chez des vaches normales (Huszenicza et al, 1999 ; Dohmen et al, 1995)

| BACTERIES | Vaches normales (n=40) | Métrite chronique (n=101) |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| | 10 jours postpartum | 21 jours postpartum |
| <i>Arcanobacterium pyogenes</i> | 35% | 65% |
| <i>Escherichia coli</i> | 55% | 36% |
| Anaerobies a Gram negatif | 10% | 80% |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 88% | 18% |
| Aerobie a Gram positif (<i>Peptostreptococci</i>) | 20% | 21% |
| Autres (Staph spp., Lactobacillus spp. Bacillus spp, Proteus spp., Clostridium spp) | 43% | 9% |

Tableau n°3 : Classification des bactéries, isolées par culture aéro et anaérobie, selon leur pouvoir pathogène, dans le cadre des métrites chroniques de la vache (Williams et al., 2005)

| Pathogènes majeurs | Potentiellement pathogènes | Contaminants opportunistes |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Arcanobacterium pyogenes | <i>Bacillus licheniformis</i> | <i>Clostridium perfringens</i> |
| Bacteroides sp. | <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae</i> |
| Prevotella melaninogenicus | <i>Mannheimia haemolytica</i> | <i>Proteus sp.</i> |
| Escherichia coli | <i>Pasteurella multocida</i> | <i>Staphylococcus sp., coagulase negative</i> |
| Fusobacterium necrophorum | <i>Peptostreptococcus sp.</i> | <i>Streptococci α-Hemolytique</i> |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Streptococcus acidominimus</i> |
| | <i>Streptococcus Non-hemolytique</i> | <i>Aspergillus sp.</i> |

En dehors de ces germes bactériens majoritairement identifiés, d'autres pathogènes peuvent être impliqués dans le développement de la métrite chronique. C'est le cas par exemple du BHV-4 (Bovine Herpes Virus) dont le rôle immunodépresseur est reconnu (Frazier et al., 2002), *Leptospira* sp., *Vibrio fetus*, *Trichomonas fetus* et *Brucella abortus*, *Haemophilus somnus*, *Mycoplasma* sp. Et *Ureaplasma* sp. (Wittenbrink et al., 1994).

Le rôle du BHV-4 dans les infections utérines est encore relativement peu exploré. Donofrio a observé, in vitro, que le virus BHV-4 a un tropisme pour les cellules endométriales, causant un effet cytopathique (Donofrio et al., 2007).

1.2 La relation entre les agents pathogènes et les signes cliniques :

L'intensité du caractère pathologique des sécrétions intra-utérines est associée qualitativement et quantitativement à l'infection.

Ainsi Dohmen, sur des vaches atteintes de métrite chronique, a observé une augmentation de la prévalence d'*Arcanobacterium pyogenes* et des bactéries anaérobies à Gram négatifs lorsque le caractère pathologique de l'aspect des sécrétions augmentait (mucus avec trace de pus, muco-purulent, purulent, malodorant avec des traces de sang) ; (Dohmen et al., 1995).

Le caractère pathologique est également associé à un aspect quantitatif de l'infection. Une concentration en pathogènes intra-utérins reconnus est corrélée avec des sécrétions allant de muco-purulentes à purulentes. En revanche, la présence de *Streptococci* et de *Staphylococci* à coagulase négatifs n'est pas associée à un aspect normal des sécrétions (Dohmen et al., 1995 ; Williams et al., 2004). Le caractère malodorant des sécrétions intra-utérines suggère la prolifération de germes anaérobies (Williams et al., 2004).

1.3 La synergie entre les agents pathogènes des endométrites chroniques :

Les endotoxines et les lipo-saccharides libérés par les coliformes dans les affections précoces du postpartum (suite de dystocie, rétention placentaire) pourraient favoriser l'établissement ultérieur de l'infection à *A. pyogenes* et des bactéries à Gram négatifs. Dohmen a observé que la présence d'*E.coli* un jour postpartum augmente la prévalence d'*Arcanobacterium pyogenes* et des anaérobies à Gram négatifs quatorze jours après vêlage (Figure n°7) ; (Dohmen et al., 2000).

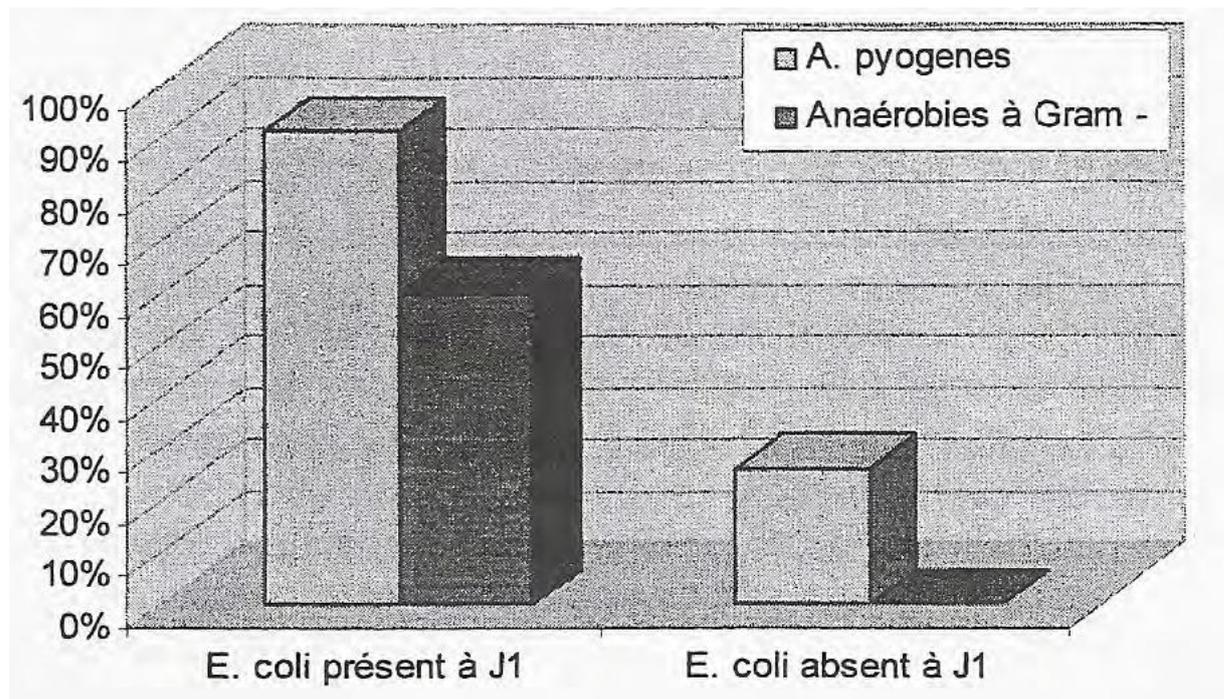


Figure n°7 : Relation entre la prévalence d'E. coli un jour postpartum et la prévalence d' A. pyogenes et des anaérobies à Gram négatifs quatorze jours postpartum (Dohmen et al., 2000)

Parmi les vaches non infectées par E. coli le lendemain du vêlage, 30% sont infectées par A. pyogenes quatorze jours plus tard. Ce pourcentage est de 90% en cas d'infection par E. coli un jour postpartum.

En ce qui concerne les bactéries anaérobies à Gram négatifs, ces pourcentages sont respectivement de 5% et 50% en cas d'absence ou de présence d'E. coli le lendemain du vêlage (Dohmen et al., 2000). La présence d' A. pyogenes est fortement corrélée avec celle des bactéries anaérobies à Gram négatifs, tandis que à l'inverse, E. coli et Streptococci sont négativement corrélées avec la présence d' A. pyogenes (Dohmen et al., 1995).

La virulence d'un germe peut également s'extérioriser lors d'association avec d'autres bactéries. Des corrélations significatives ont été mises en évidence d'une part entre A. pyogènes et *Prevotella* spp (bacteroides), et d'autre part entre A. pyogenes et *F. necrophorum*. Ainsi, dans une étude réalisée sur 101 vaches atteintes d'endométrites chroniques, *Prevotella* spp et *F. necrophorum* ont été retrouvées respectivement dans 89% et 70% des prélèvements positifs pour A. pyogenes alors qu'ils ne l'étaient que dans 54% et 45% pour les vaches non infectées par A. pyogenes (Dohmen et al. 1995) ; (Figure n°8).

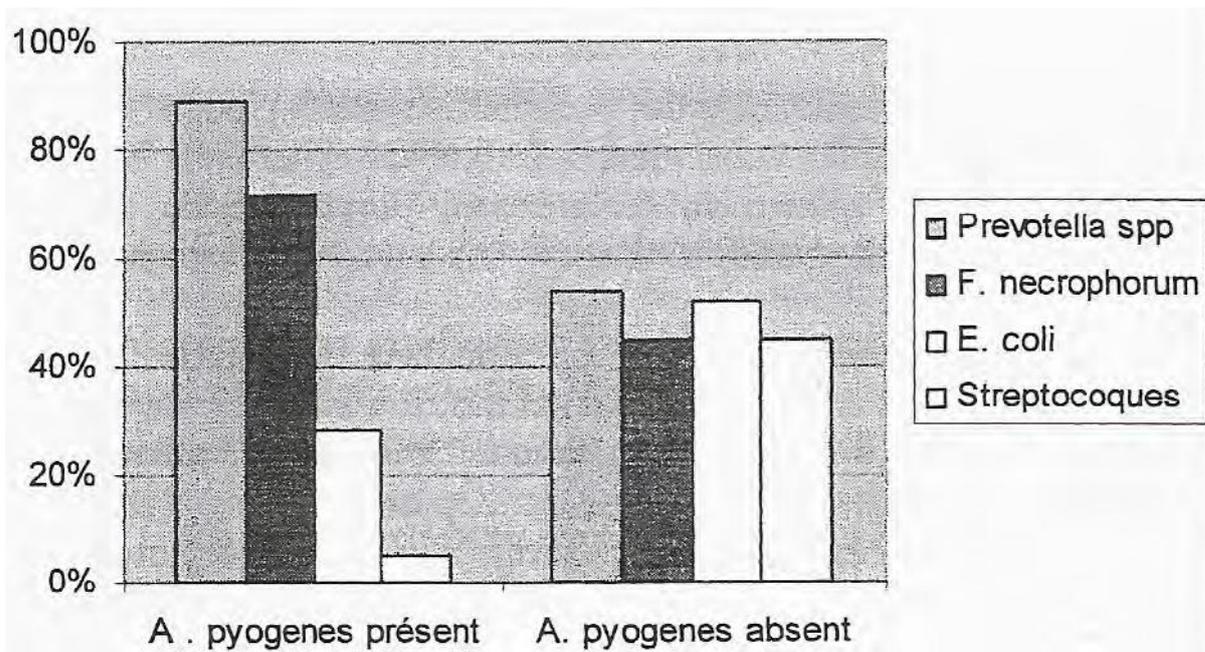


Figure n°8 : Résultats bactériologiques d'écouvillons utérins de vaches à endométrites selon la présence ou l'absence d' A. pyogenes (Dohmen et al., 1995)

La présence d'A. pyogènes contribue à augmenter la gravité et la durée de l'endométrite surtout si elle est concomitante à celle de Fusobacterium necrophorum ou de Bacteroides melanogenicus (El-Azab et al., 1988 ; Farin et al., 1989 ; Dohmen et Loohuis, 1995) et constatée pendant plus d'une à deux semaines.

Le mécanisme de cette action synergique a fait l'objet de plusieurs études. Il a ainsi été démontré que le Bacteroides melanogenicus libère dans l'environnement utérin une substance qui prévient la phagocytose et inhibe ce faisant, les mécanismes de défense de l'utérus.

De même, Fusobacterium necrophorum produit une leucotoxine, toxique pour les phagocytes. Cependant, ces bactéries se protègent et protègent A. pyogenes contre la phagocytose. A l'inverse, A. pyogenes produit un facteur qui stimule la multiplication du Fusobacterium pyogenes (Roberts,1986). Ces germes ne peuvent néanmoins envahir l'épithélium utérin que si celui-ci présente des lésions (Kasari et al.,1988). Certains germes peuvent également fournir à d'autres des éléments essentiels à leur développement comme la vitamine K et des facteurs de croissance (Rotstein et al., 1985).

1.4 Mécanismes de virulence des pathogènes impliqués :

1.4.1 Facteurs de virulence

Certains mécanismes généraux de virulence des pathogènes impliqués dans l'endométrite ont été identifiés.

A .pyogenes exprime un facteur de virulence majeur, la pyolisine (Palmer, 2001 ; Billington et al., 1997). Il s'agit d'une protéine capable de former des pores dans les membranes des

cellules de l'hôte entraînant ainsi la lyse cellulaire. La pyolisine est dite «cholestérol dépendante» car son action nécessite la présence de cholestérol dans les membranes.

Des essais de vaccination dans un modèle murin, avec de la pyolisine détoxifiée ainsi que l'absence de virulence de souches d'*A. pyogenes* mutées, ou déficientes, au niveau de la pyolisine, indiquent que cette molécule est un important facteur de virulence (Jost et al., 2003). Les souches d' *A. pyogenes* issues de prélèvements utérins effectués lors de métrites, sont toxiques pour des cellules épithéliales utérines en culture *in vitro*.

F. necrophorum est dotée d'une activité collagénase (Okamoto et al., 2001) qui pourrait permettre d'induire des lésions tissulaires. Elle sécrète par ailleurs une puissante leucotoxine (Narayanan et al., 2002), extrêmement active et relativement spécifique des leucocytes de ruminants puisque peu active sur les leucocytes équins, et peu ou pas active sur les leucocytes de porc et lapin.

Les bactéries du genre *Bacteroides*, produiraient une capsule qui empêcherait leur phagocytose. Par ailleurs, elles sécrètent des facteurs dégradant les protéines du complément qui empêchent ainsi leur opsonisation, et donc leur phagocytose (Botta et al., 1994).

2. Modulation de l'activité des PN :

Zerbe a observé, *in vitro*, que les PN ont leur activité modulée directement ou indirectement par les bactéries (Zerbe et al., 2002). La réduction des capacités toxiques des PN migrant dans la lumière utérine et l'altération de leur phénotype, seraient dues non seulement aux interactions avec les bactéries ou leurs produits, mais aussi, et peut être de manière plus importante, à des facteurs sécrétés par l'animal en réponse à l'infection, comme par exemple les métabolites de l'acide arachidonique ou des cytokines (Zerbe et al., 2002).

CHAPITRE III : DIAGNOSTIC CYTOLOGIQUE DES ENDOMETRITES

A. Importance du diagnostic des endométrites :

1. Impact des endométrites :

Chez les vaches présentant une forte densité de bactéries pathogènes dans l'utérus à 7JPP, la concentration plasmatique en œstradiol est moindre, et le premier follicule dominant ainsi que le premier corps jaune sont plus petits que ceux des vaches saines (Williams et al, 2007).

Toutes ces perturbations hormonales impliquent une diminution de l'immunité locale. Subandrio et al, (2000) ont tenté d'analyser les effets d'une diminution de concentration d'œstrogènes, en travaillant avec des vaches ovariectomisées le nombre total de PNN est significativement plus bas que chez une vache en période d'œstrus, ou chez une vache ovariectomisée traitée aux œstrogènes. Dans cette étude, le chimiotactisme des PNN est également diminué chez les mêmes animaux, lors d'introduction d'antigène dans l'utérus.

L'œstradiol n'est pas la seule hormone dont la concentration est modifiée lors d'atteinte de l'utérus : un filtrat d'A. pyogènes, ou du lipo-poly-saccharide (LPS) d'E. Coli, mis au contact d'isolats d'endomètre in vitro, stimulent de façon importante la production de prostaglandines E2 (PGE2) par les cellules du stroma comparé à la production de PGF2 α par les cellules épithéliales (Miller et al, 2007 ; Sheldon et al. 2009a ; Herath et al, 2009).

In vivo, chez les vaches atteintes, on constate un allongement de la phase lutéale. L'accumulation de PGE2 en réponse à la présence de LPS d'E. coli dans le follicule ovarien maintient le corps jaune, au lieu de laisser place à la lutéolyse, assurée par les prostaglandines F2 α . Cependant, il est important de ne pas rester focalisé sur la synthèse de PGE2 : plus que sa quantité absolue, c'est sa quantité relative par rapport à celle de PGF2 α qui est réellement importante (Sheldon et al. 2009b)

Opsomer et al, (2000), et Shrestha et al, (2004) ont constaté que les vaches présentant un écoulement vaginal anormal avaient un risque significativement augmenté d'allongement du délai nécessaire à la reprise de la cyclicité. Le nombre de follicules présents entre 14 et 28 JPP est similaire pour les vaches saines et celles présentant un écoulement purulent ; cependant, les vaches atteintes ont un intervalle V-IAF augmenté par rapport aux vaches saines (Sheldon et al, 2000).

Dans l'étude d'Opsomer et al, (2000), la présence d'un écoulement vaginal anormal s'est révélée être un paramètre significatif de l'allongement de la phase lutéale. Le corps jaune synthétise de la progestérone plus longtemps, et d'après Lewis, (2003) sa concentration plasmatique est également plus élevée que celle d'une vache saine.

Les effets immunosuppresseurs de cette hormone sont connus depuis longtemps (Lewis, 2004 ; Singh et al, 2008), alors que l'oestradiol permet de stimuler l'épithélialisation, la vascularisation et la production de mucus (Bondurant, 1999 ; Sheldon et al, 2006 ; Azawi, 2008). L'allongement de la phase lutéale ainsi que la moindre concentration en oestradiol permettent donc d'expliquer pourquoi l'utérus peut être dépassé en cas de contamination bactérienne.

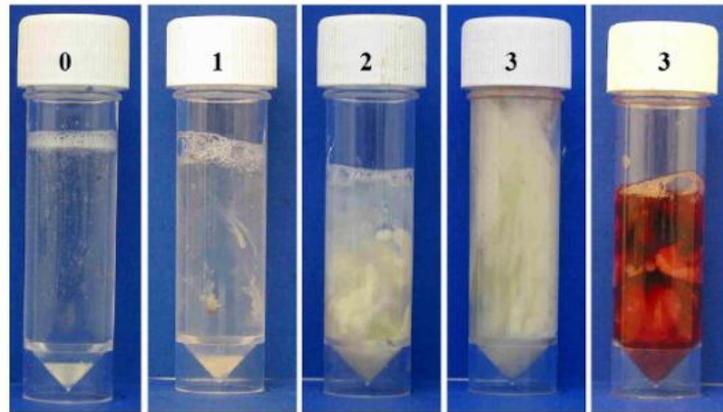
Il a également été démontré que le LPS a pour effet d'empêcher la libération hypothalamique de GnRH, donc de perturber la sécrétion de LH, qui inhibe le phénomène d'ovulation malgré la présence de follicules dominants (Sheldon et al, 2000 ; Sheldon et al, 2006a ; Dobson et al, 2007 ; Azawi, 2008b). Ce bouleversement conduit à la formation de kystes folliculaires, cause d'anoestrus (Bonnett et al, 1994 ; Lewis, 1997 ; Sheldon et Dobson, 2004).

2. Méthodes de diagnostics utilisées :

2.1. Examen transvaginal

Il s'agit ici de recueillir dans la main les sécrétions pour les observer. Après avoir nettoyé et séché la vulve, le praticien introduit sa main gantée et lubrifiée à l'eau dans le vagin, afin d'y recueillir sur l'ensemble de ses parois les sécrétions éventuellement présentes (Deguillaume, 2007). Les sécrétions sont ensuite observées hors du vagin, leur aspect ainsi que leur odeur étant des éléments diagnostiques indispensables.

L'observation des sécrétions dans le gant d'examen permet de classer les endométrite selon les critères de Williams et al, (2005) (figure 9).



| Proportion de pus | |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0 point | Mucus clair et translucide |
| 1 point | Mucus contenant des flocons blancs |
| 2 points | Moins de 50mL d'exudat contenant moins de 50% de matériel mucopurulent, blanc |
| 3 points | Plus de 50mL d'exudat contenant du pus blanc ou jaunâtre et occasionnellement sanguinolent |
| Odeur du mucus | |
| 0 point | Odeur normale |
| 1 point | Odeur fétide |

Figure 9: Classification du mucus vaginal d'après son aspect visuel

2.2. Examen échographique

L'échographie transrectale est une méthode peu invasive d'examen de l'appareil reproducteur femelle, par réflexion d'ultrasons sur les organes. Pour la détection des endométrites, un échographe avec une sonde linéaire de 5 ou 8 MHz est correct. La sonde de 5-6 MHz est un compromis acceptable entre la profondeur de la pénétrance (jusqu'à 10 cm) et la qualité de l'image (résolution).

Cependant, la qualité de l'écran et donc de l'image, indépendamment de la résolution, varie énormément d'un échographe à l'autre. L'achat d'un échographe moins performant est une source de difficulté pour ses propriétaires qui se voient limités, dans leur diagnostic, par la mauvaise qualité de l'image. Il est également préférable de disposer d'un petit échographe, portable, conçu pour fonctionner sur batterie (Deguillaume, 2007).

Le praticien porte un gant d'examen en plastique lubrifié, et après passage du sphincter anal, le rectum est vidé des matières fécales. Après localisation des cornes par palpation rectale, le vétérinaire introduit la sonde échographique dans le rectum, cette dernière étant posée contre la paroi ventrale, et déplacée longitudinalement suivant l'axe de l'animal et par rotation pour mieux balayer les cornes utérines. Le vétérinaire peut alors suivre sur l'écran de l'échographe les images de l'utérus et de sa cavité.

Un de ses atouts majeurs est de pouvoir offrir au praticien des images de coupes transversales et longitudinales, permettant une évaluation complète et précise de l'organe. Lenz et al, (2007), ont montré qu'il existe des différences significatives de qualités

échographiques de l'utérus et de son contenu entre 21 et 27 jours post partum entre les animaux, et qu'il est ainsi possible d'identifier les vaches atteintes d'endométrite. Kasimanickam et al, (2004a, 2006) et Sheldon et al, (2006a), affirment également que l'échographie permet une observation et une évaluation du contenu utérin, dont la présence de liquide lorsque le col est fermé, ce qui reste impossible avec les méthodes de recueil des sécrétions utilisées seules, ou de palpation transrectale

2.3. Examen bactériologique

L'examen bactériologique permet (en théorie) de mettre en évidence le ou les germes impliqués dans une infection de l'utérus, quels qu'ils soient, et ce pour toutes les vaches. Un échantillon est prélevé stérilement directement dans l'utérus par cathétérisme du col, puis mis en culture ; la réalisation d'un antibiogramme est également possible. Grâce à cette méthode, le praticien est en mesure de savoir quel germe est en cause en se référant à la classification des bactéries pathogènes, pathogènes occasionnelles ou pathogènes opportunistes (Williams et al, 2005).

Cette information est précieuse, par exemple dans le choix d'un traitement (lors de différenciation bactérie – champignons – levures). Cependant, elle n'est pas utilisable sur le terrain à grande échelle, car elle est longue à mettre en œuvre (récolte des échantillons pour chaque vache, envoi au laboratoire, mise en culture) et coûteuse (40 à 50€ selon les laboratoires). De plus, de nombreuses contaminations sont possibles en raison des matières fécales souvent présentes en région périnéale, et la présence de germes dans l'utérus même au-delà de 21 JPP n'assure pas la présence d'une inflammation de l'utérus (Lewis, 1997). Sur le terrain, peu de souches sont isolées, et il est difficile d'attribuer la responsabilité de l'infection à ces germes.

Cette méthode est donc à réserver aux animaux de valeur, présentant une infection particulièrement difficile à traiter, et pour lesquels des examens complémentaires sont nécessaires.

2.4. Examen histologique

L'examen anatomopathologique (histologique) implique la réalisation d'un prélèvement au moyen d'une pince à biopsie utérine

La biopsie utérine est considérée comme la méthode standard pour caractériser l'état d'inflammation d'une muqueuse. La signification des cellules inflammatoires doit toujours être considérée en relation avec la phase du cycle au moment de la biopsie (de Bois et Manspeaker, 1986). Des polynucléaires neutrophiles peuvent être présents à la surface de l'épithélium, du stroma ou autour des conduits glandulaires, de façon physiologique, durant la relative courte période (environ deux jours), qui précède et qui suit l'œstrus (Studer et Morrow, 1980 ; de Bois et Manspeaker, 1986). En dehors de ce moment, les cellules lymphocytaires sont présentes en faible nombre dans l'épithélium de la muqueuse utérine.

Les cas modérés et sévères des endométrites sont plus faciles à diagnostiquer sur la base d'une augmentation du nombre de cellules inflammatoires à travers le stratum compactum et la couche spongieuse. Les cellules inflammatoires sont en faible proportion dans les cas d'endométrites moins sévères (de Bois et Manspeaker, 1986). L'inflammation du stratum compactum, augmente le risque pour une vache d'exprimer des mauvaises performances de reproduction (Bonnett et al., 1993). Concernant le nombre de foyers lymphocytaires, il semble devoir être considéré comme pathologique et moins favorable à un bon pronostic pour Studer et Morrow (1980) alors que leur présence diminue les risques de mauvaises performances de reproduction pour Bonnett (Bonnett et al., 1993).

La facilité d'emploi et le coût de cette technique restent discutés alors que sa valeur pronostique semble tout à fait justifiée. La biopsie est l'examen de choix dans l'évaluation de l'inflammation de l'endomètre. Son utilisation à grande échelle est cependant limitée en raison du risque d'altération des performances de reproduction

2.5. Examen cytologique

a) Définition

C'est la détermination de la réaction inflammatoire de l'utérus par le dénombrement des cellules inflammatoire suite à un prélèvement réalisé au niveau de l'utérus.

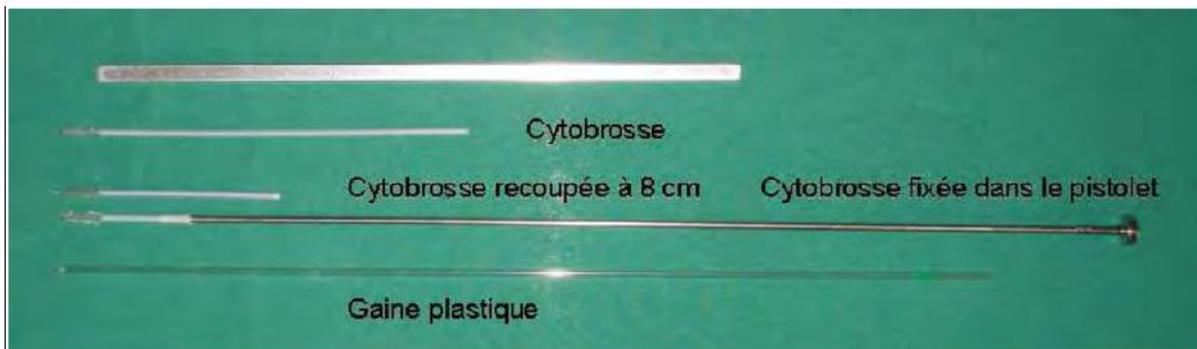
b) Méthode de prélèvement

Les cellules présentes dans la muqueuse endométriale peuvent être recueillies par drainage de la cavité utérine ou au moyen d'une cytobrosse. Le drainage s'effectue au moyen d'une pipette de 50 à 60 cm de long reliée à une seringue de 20 ou 60 mL remplie d'une solution stérile de chlorure de sodium à 9 ‰ (Gilbert et al., 2005 ; Kasimanickam et al., 2005 ; Barlund et al., 2008). Les cornes utérines sont soigneusement massées avant de réaspirer le liquide dans un tube stérile. Cette aspiration permet de récolter quelques millilitres. Le prélèvement sera transféré au laboratoire dans les 6 heures pour y être centrifugé (600 g pendant 15 minutes, 766 g pendant 5 minutes ou 1000 rpm pendant 7 minutes selon les auteurs ; Barlund et al., 2008 ; Kasimanickam et al., 2005 ; Gilbert et al., 2005). Le surnageant sera éliminé et le culot de centrifugation étalé sur une lame après sa remise en suspension dans une petite quantité de liquide.

Les cellules endométriales peuvent également être récoltées au moyen d'une cytobrosse (CML, Nemours, France 20 Euros pour 100 cytobrosses) ; (Figures n°10 et n°11). Celle-ci, coupée à 8 cm est fixée sur un pistolet d'insémination de 50 à 65 cm de long et 3 mm de diamètre interne.

L'ensemble est placé dans une gaine plastique d'insémination pour rigidifier l'ensemble et protéger la cytobrosse puis dans une chemise sanitaire pour éviter la contamination

vaginale. Cette chemise est perforée lors du passage cervical du pistolet d'insémination. Puis la gaine plastique est rétractée afin d'exposer la cytobrosse à la muqueuse utérine. Un



mouvement de rotation est ensuite appliqué à la brosse, au contact de l'endomètre utérin.

Figure 10: Matériel d'utilisation de la cytobrosse (Deguillaume, 2007)



Figure 11: Cytobrosse et système de fixation au pistolet d'insémination (Deguillaume, 2007)

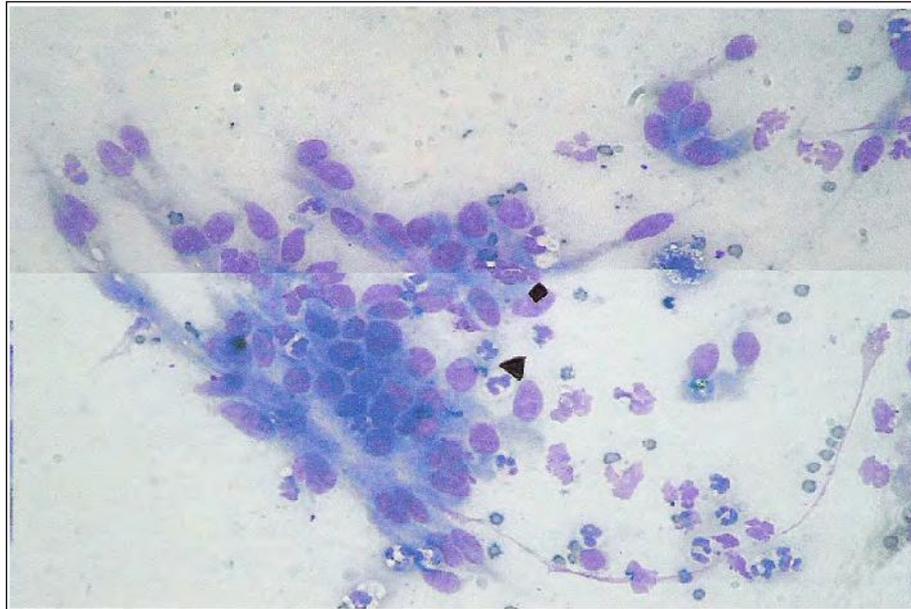
c) Fixation et coloration

Après avoir fait ressortir le dispositif de prélèvement, la cytobrosse est alors roulée sur une lame et le frottis ainsi obtenu est fixé ou non au moyen d'une bombe fixatrice

d) Lecture microscopique

Quelle que soit la méthode de prélèvement des cellules, les frottis obtenus seront colorés au Giemsa (Figure n°12). L'évaluation implique le comptage d'un minimum de 100 cellules aux grossissements 400 et 1000 à immersion pour déterminer le pourcentage de polynucléaires neutrophiles. Un double comptage peut être réalisé. Il est également possible d'estimer la

quantité de leucocytes au moyen d'une bandelette urinaire (bandelette Multistix®) placée



dans le liquide de drainage récolté (Santos et al., 2006).

Figure12 : Examen cytologique d'un frottis utérin obtenu par cytobrosse. Frottis utérin avec inflammation, avec présence de polynucléaires neutrophiles () autour des cellules épithéliales (◆) (Deguillaume, 2007)

e) Interprétation

Le nombre de polynucléaires neutrophiles de l'endomètre utérin (évalué par examen histologique) diminue avec le délai écoulé en postpartum jusqu'à l'approche de l'involution histologique complète qui intervient vers le quarantième jour (Bonnett et al., 1991c ; Gilbert et al., 1993). La cytologie endométriale donne le même résultat: l'expérience de Kasimanickam montre que le pourcentage de PN est associé négativement avec le nombre de jours écoulés depuis le vêlage (Kasimanickam et al., 2005).

Klucinski, cité par Kasimanickam et al. (2004), indique qu'il existe une augmentation de 90% du pourcentage de PN dans l'utérus pendant des inflammations cliniques et subcliniques (Klucinski et al., 1990). Cette technique permet d'identifier les vaches en métrite subclinique. En effet, selon Kasimanickam une inflammation subclinique de l'endomètre se définit par un taux de PNN supérieur à 18% entre vingt et trente-trois jours postpartum, ou supérieur à 10% entre trente-quatre et quarante-sept jours (Kasimanickam et al., 2004). Gilbert estime pathologique la présence de plus de 5% de PN sur les frottis endométriaux entre quarante et soixante jours postpartum (Tableau n°4) ; (Gilbert et al., 2005). La validité de la cytologie endométriale est, de plus, confirmée par l'impact de la maladie sur les paramètres reproductifs.

Tableau 4 : Seuils proposés pour la définition des métrites chroniques cliniques et

| DATE EXAMEN | % PNN | AUTEUR | TECHNIQUE DE RECUEIL |
|------------------------|-------|----------------------------|----------------------|
| 20-33 jours postpartum | ≥ 18% | Kasimanickam et al. (2004) | Cytobrosse |
| 34-47 jours postpartum | ≥ 10% | Kasimanickam et al. (2004) | Cytobrosse |
| 40-60 jours postpartum | ≥ 5% | Gilbert et al. (2005) | Lavage utérin |

subcliniques (Gilbert et al., 2005)

Il semblerait que l'identification des PN, des cellules endométriales et des débris cellulaires soit plus aisée à réaliser sur des prélèvements réalisés au moyen de la cytobrosse que par drainage de la cavité utérine (Barlund et al., 2008 ; Kasimanickam et al., 2005).

Ces deux méthodes de prélèvement ne sont pas absolument dépourvues d'effets secondaires sur l'endomètre (Roszel et Freeman, 1988 ; Brook, 1993 ; Kasimanickam et al., 2005). Le nombre de cellules sanguines identifiées dans le liquide de drainage est habituellement plus élevé que celui obtenu par la cytobrosse. Cette différence traduirait la possibilité d'un traumatisme plus important lors de l'insertion de la pipette d'installation du liquide de drainage. L'utilisation d'une cytobrosse entraîne moins de manipulations des prélèvements réalisés dans l'utérus (Barlund et al., 2008).

L'examen cytologique réalisé au moyen d'une cytobrosse présente une plus grande répétabilité que celui effectué à partir de liquide de drainage de la cavité utérine (0,85 vs 0,76) (Barlund et al., 2008).

En tant que méthode de diagnostic des endométrites chroniques et de leurs effets sur les performances de reproduction, la cytologie de l'endomètre serait une méthode dont la sensibilité et la spécificité seraient respectivement de 36 et 94 % (Kasimanickam et al., 2005).

La cytologie endocervicale pourrait constituer une méthode alternative intéressante (Ahmadi et al., 2004, 2006). L'intérêt du drainage de la cavité utérine réside en ses importantes sensibilité (92,3%) et spécificité (93,9%) comparaison faite avec un prélèvement réalisé au moyen d'une cytobrosse (Barlund et al., 2008).

En ce qui concerne la bandelette Multistix®, un résultat positif présente quel qu'en soit le degré (+/++/+++) une sensibilité de 83 % et une spécificité de 94 % comparée à une cytologie réalisée sur le liquide de drainage utérin. Elle est par ailleurs étroitement corrélée avec l'examen microscopique (Santos et al., 2006).

f) Intérêt de cette technique par rapport aux autres techniques ;

L'intérêt diagnostique de la cytologie doit être prouvé par association à d'autres techniques ou critères de diagnostic. Il est de plus intéressant de la comparer à certaines de ces techniques, également employées couramment dans la démarche de dépistage de l'endométrite, afin de savoir quelle place le praticien doit lui donner dans l'interprétation d'un ensemble d'examens.

- **Concordance avec la fertilité**

Dans l'espèce bovine, il est important que la technique diagnostique employée soit bien associée à la fertilité car la diminution de celle-ci est la seule manifestation de l'endométrite subclinique.

Plusieurs études sur l'impact de l'endométrite sur la fertilité chez la vache ont été réalisées. Ainsi, dans l'étude de GILBERT et al. (2004), les vaches cytologiquement positives entre 40 et 60 jours PP ont un taux de gestation à 300 jours PP significativement plus faible que les vaches négatives (63 contre 89%). Dans une étude similaire, KASIMANICKAM et al. (2004) ont également montré une association entre une cytologie positive entre 20 et 33 jours PP d'une part, et entre 34 et 47 jours d'autre part (les vaches ayant été prélevées deux fois à quinze jours d'intervalle), et la diminution du taux de gestation. BARLUND et al. (2008), enfin, ont montré que les vaches cytologiquement positives ont 1,9 fois plus de risques d'être encore non gravides à 150 jours PP.

D'autres critères de fertilité que le taux de gestation sont également influencés négativement par la positivité de la cytologie: le taux de réussite à la première IA est celui qui l'est de façon la plus marquée selon GILBERT et al. (2004) mais l'intervalle vêlage- 1ère IA, le nombre d'IA par insémination fécondante, l'intervalle vêlage-insémination fécondante, le sont également (GILBERT et al., 2004 ; KASIMANICKAM et al., 2004).

BARLUND et al. (2008) sont en accord avec ces résultats, sauf pour l'intervalle vêlage-1^{ère} IA, pour lequel ils ne trouvent pas de différence significative entre les vaches cytologiquement positives et les vaches cytologiquement négatives.

Concernant la cytologie cervicale, AHMADI et al. (2006) ont montré, chez des vaches testées entre 25 et 30 jours puis 55 et 60 jours PP, qu'il n'y a pas de différence significative du taux de neutrophiles entre celles qui ont nécessité par la suite une seule IA pour être fécondées et celles qui en ont nécessité 2 ou 3. Par contre, il existe une différence significative parmi les vaches infertiles (celles ayant nécessité 2 ou 3 IA) entre celles dont le taux de progestérone est inférieur à 1 ng/mL au moment de l'examen (qui sont donc en phase folliculaire) et celle dont le taux de progestérone est supérieure à 1 ng/mL au moment de l'examen (qui sont donc en phase lutéale). Les frottis des vaches infertiles en phase folliculaire présentent un taux de neutrophiles plus élevé que les frottis des vaches infertiles en phase lutéale. Cette différence n'existe pas chez les vaches fertiles (celles n'ayant

nécessité qu'une seule IA). Il pourrait donc y avoir réactivation d'une inflammation chez les vaches infertiles en fonction de la phase du cycle.

La validation de l'utilisation de la cytologie endométriale s'appuie donc chez la vache sur cinq études où il est montré que le résultat de la cytologie endométriale est associé aux performances de reproduction. Chez la jument, deux études, dont une portant sur un grand nombre d'individus (plus de 2000 juments), montrent une association entre la cytologie et le taux de gestation. Toutefois, l'utilisation des performances de reproduction comme "gold standard" dans la validation de la cytologie endométriale peut conduire à des résultats faussement négatifs et faussement positifs.

Ainsi, en utilisant le diagnostic de gestation à 150 jours comme critère de performance et un seuil de 8% de neutrophiles sur des examens cytologiques effectués entre 28 et 41 jours PP, BARLUND et al. (2008) attribuent à la cytologie utérine à partir d'un lavage utérin une sensibilité de 0.14 et une spécificité de 0.84. Pour la cytologie utérine à partir d'une cytobrosse, la sensibilité est de 0.13 et la spécificité de 0.90. Cela signifie que parmi les vaches non gestantes à 150 jours PP, seules 14% sont positives à la cytologie à partir d'un lavage utérin, et seules 13% sont positives à la cytologie utérine à partir d'une cytobrosse.

Parmi les vaches gestantes à 150 jours PP, 84% sont négatives à la cytologie à partir d'un lavage utérin, et 90% sont négatives à la cytologie à partir d'une cytobrosse. Les auteurs expliquent cette faible sensibilité par le fait que d'autres facteurs qu'une endométrite cytologiquement évidente peuvent influencer la fertilité : chez la jument, la réussite de l'insémination dépend entre autres de l'étalon, et chez la vache de nombreux autres facteurs peuvent être à l'origine de mauvaises performances de reproduction (mauvaise détection des chaleurs, anomalies de la cyclicité ovarienne, déficit énergétique, boiteries,...).

L'examen cytologique est donc peu prédictif de la fertilité, mais l'est bien de l'infertilité. De même, chez la vache, il serait utile d'interpréter les résultats de la cytologie en fonction des variations du taux de neutrophiles au cours du cycle et au cours de l'involution utérine, afin d'écartier les faux positifs. De plus, la possibilité d'une résolution spontanée de l'endométrite peut également conduire à des résultats faussement positifs. L'utilisation de la fertilité comme "gold standard" est donc critiquable (LEBLANC et al., 2002 ; KASIMANICKAM et al., 2004).

- **Concordance et comparaison avec l'histologie**

La biopsie n'est pas utilisable en routine chez la vache car il a été prouvé (ETHERINGTON, 1988 ; BONNETT et al., 1988 cités par BONNETT et al., 1992) qu'elle a un effet délétère sur la fertilité.

Dans une étude récente comparant différentes techniques diagnostiques de l'endométrite chez la jument (NIELSEN, 2005), l'auteur utilise la présence de granulocytes dans

l'endomètre issu d'une biopsie comme « gold standard ». Le seuil histologique de positivité est l'infiltration des tissus par au moins un polynucléaire pour 5 champs à *400. Le seuil de positivité du frottis endométrial, réalisé à l'aide d'un écouvillon protégé par une gaine, est un pourcentage de polynucléaires supérieur à 0.5% parmi toutes les cellules (200 cellules comptées au minimum).

La sensibilité de la cytologie est alors de 0.77, ce qui est inférieur à celle de la culture bactérienne à partir d'une biopsie (0.82), mais nettement supérieur à celle de la culture bactérienne à partir d'un écouvillon (0.34). La spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) de la cytologie sont respectivement 1.0, 1.0, et 0.62.

Si l'on considère l'histologie comme la technique donnant des informations les plus proches de la réalité et qu'on l'utilise comme « gold standard », la cytologie à partir d'un écouvillon apparaît donc comme une technique parfaitement capable de fournir une réponse négative (spécificité de 1). De plus, la probabilité qu'une réponse positive à ce test corresponde réellement à une endométrite est, d'après cette étude, de 1. Toutefois, la probabilité pour qu'une réponse négative à ce test corresponde réellement à une absence d'endométrite n'est que de 0.62, ce qui reste cependant plus élevé que la VPN de la culture bactérienne à partir d'un écouvillon (0.44).

- **Association avec l'échographie**

Chez la vache, l'échographie et la cytologie ont une faible association (kappa de 0.28) (KASIMANICKAM et al., 2004). Pourtant, d'après les mêmes auteurs, la présence de liquide dans l'utérus entre 20 et 47 jours PP est tout aussi révélatrice d'une endométrite qu'une cytologie positive, car également significativement corrélée à une diminution du taux de gestation. Ces deux techniques conjointes permettent même une meilleure détection des endométrites graves. En effet, BARLUND et al. (2008) montrent qu'il est possible de doubler la sensibilité du diagnostic sans diminuer fortement sa spécificité en combinant la cytologie par cytobrosse et la présence, à l'échographie, de plus de 3 mm de liquide dans l'utérus.

La faible association de ces deux techniques s'explique certainement par le fait qu'elles ne diagnostiquent pas la même défaillance du système de défense de l'utérus : la cytologie rend compte du niveau de réponse cellulaire tandis que l'échographie permet d'apprécier la capacité de vidange de l'utérus (KASIMANICKAM et al., 2004). Or on peut supposer que toutes les vaches ne développent pas avec la même intensité l'une ou l'autre des deux réponses à la contamination. De plus, la présence de liquide dans l'utérus peut être associée chez la vache à de nombreuses autres situations, comme notamment les chaleurs ou la présence d'un kyste ovarien.

En utilisant le taux de gestation à 132 jours comme "gold standard", la sensibilité du critère diagnostique utilisé dans l'étude de KASIMANICKAM et al. (2004) (cytologie positive ou présence de liquide dans l'utérus) est de 36% et sa spécificité de 94%. Cette faible sensibilité,

également constatée par BARLUND et al. (2008) pour la cytologie par cytobrosse uniquement (voir II.F.1.a.), s'explique par le fait que de nombreux autres facteurs que l'endométrite influencent les performances de reproduction, sur lesquelles sont basées ces études.

Echographie et cytologie doivent donc être utilisées conjointement afin d'améliorer la sensibilité de la détection de l'endométrite.

Conclusion

La cytologie utérine est un examen facile à réaliser chez la vache, assez peu coûteux et permettant l'obtention rapide d'un résultat. Chez la vache, il doit aider dans le diagnostic de l'endométrite en liaison avec les signes cliniques, et être au besoin associé à un examen bactériologique.

La cytologie cervicale, pourtant beaucoup plus facile à mettre en œuvre chez la vache demande quant à elle encore à être validée.

La cytologie utérine ou cervicale peut avoir d'autres applications que la simple détection d'une endométrite. Ainsi, chez la femme, elle est couramment utilisée dans le dépistage de cancers. Selon GILBERT et al. (2004), elle devrait servir de moyen pour connaître les facteurs favorisant de l'endométrite en comparant les élevages bovins dont les prévalences d'endométrite sont très différentes, et ainsi assurer une bonne prévention.

(Foldi et al., 2006 ; Paisley et al., 1986 ; Hussain, 1989 ; Hussain et Daniel, 1991 ; Lewis,1997 ; Dohmen et al., 2000 ; Sheldon et Dobson, 2004 ; Sheldon et al., 2006).**105**(3-4), 187-208.

12. BONNETT B, MARTIN S, MEEK A. 1993. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev Vet Med.* **15**, 205-20.

ADASHI E.Y., RESNICK C.E., D'ERCOLEA.J., SVOBODA M.E., VAN WYK J.J., 1985. Insulin-like growth factors as intraovarian regulators ofgranulosa cell growth and function. *Endoc. Rev.*, 6, 400 - 420.

ARCHBALD L.F., TSAI I.F., THATCHERW.W., TRAN T., WOLFSDORF K., RISCO C., 1998. Use of plasma concentrations of 13,14-dihydro, 15-keto-PFF2 α (PGFM) in the diagnosis of subclinical endometritis and itsrelationship to fertility in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, 49, 1425-1436.

ASDELL S.A., 1964. Patterns of Mammalian Reproduction. Cornell University Press, Ithaca, New York, 52p.

AZAWI OI, OMRAN SN, HADAD JJ. 2008a. A study of endometritis causing repeat breeding of cycling Iraqi buffalo cows. *Reprod Domest Anim.* 43(6), 735-43.

AZAWI OI, OMRAN SN, HADAD JJ. 2008b. A study on postpartum metritis in Iraqi buffalo cows: bacterial causes and treatment. *Reprod Domest Anim.* 43(6), 556-65.

AZAWI OI. 2008. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci.* 105(3-4), 187-208.

BADINAND F., BARLET J.P., 1977. L'involution utérine chez lavache laitière. Liaisons avec quelques paramètres du plasma sanguin. *Bull. Techn. C.R.Z.V.- I.N.R.A.*, 31, 19-22.

BADINAND F., CONSTANTIN A., MEISSONNIER E., 1981. Involution utérine in L'utérus de la vache. *Soc. Franç. Buiatrie éd., Maisons-Alfort*, 201-211.

Billington S.J., Jost B.H., Cuevas W.A., Bright K.R., Songer J.G. (1997) The Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes hemolysin, pyolysin, is a novel member of the thiol-activated cytolysin family. *J Bacteriol.*, **179**, 6100-6.

Bondurant R.H. (1999) Animal Health 2 : Inflammation and Animal Health. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J Anim Sci.*, 77 Suppl 2, 101-10.

BONDURANT RH. Inflammation in the bovine female reproductive tract.*J Anim Sci.* 1999, 77(2), 101-110.

BONNETT B, MARTIN S, MEEK A. 1993. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev Vet Med.* 15, 205-20.

Botta G.A., Arzese A., Minisini R., Trani G. (1994) Role of structural and extracellular virulence factors in gram-negative anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis.*,18 Suppl 4, S260- 4.

BUCHHOLTZ G.W., NATTERMAN H., STUMPE K., 1979. Untersuchungen in einem Rinderbestand über Beziehungen zwischen Puerperalverlauf und Bakterienflora des Uterus. *Mh. Vet.-Med.*, 34, 372-376.

CAI T.Q., WESTON P.G., LUND L.A., BRODIE B., MACKENNA D.J., WAGNER W.C., 1994. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 55, 934-943.

CARMAN G.M., 1955. Interrelations of milk production and breeding efficiency in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 14, 753-759.

CE, SHELDON IM. 2009. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine

Charki. (2009) <http://vetofocus.com>

dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*. **53**(4), 841-857.

DELVECCHIO R.P., MATSAS D.J., FORTIN S., SPONENBERG D.P., LEWIS G.S., 1994. Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F₂α metabolite concentrations in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 41, 413-421.

Dohmen M.J., Joop K., Sturk A., Bols P.E., Lohuis J.A. (2000) Relationship between intrauterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology*, **54**, 1019-32.

Dohmen M.J., Lohuis J., Huszenicsa G., Nagy P., Gacs M. (1995) The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology*, **43**, 1379-88.

Donofrio G., Herath S., Sartori C., Cavirani S., Flammini C.F., Sheldon I.M. (2007) Bovine herpesvirus 4 is tropic for bovine endometrial cells and modulates endocrine function. *Reproduction*, **134**, 183-97.

El-Azab M., Whitmore H.L., Kakomo I., Brodie., McKenna D.J. (1988) Evaluation of the uterine environment in experimental and spontaneous bovine metritis. *Theriogenology*, **29**, 1327-1334.

ELEY D.S., THATCHER W.W., HEAD H.H., COLLIER R.J., WILCOX C.J., CALL E.P., 1981. Periparturient and postpartum endocrine changes of conceptus and maternal units in Jersey cows bred for milk yield. *J. Dairy Sci.*, 64, 312-320.

ELLIOTT L., McMAHON K.J., GIER H.T., MARION G.B., 1968. Uterus of the cow after parturition : bacterial content. *Am. J. vet. Res.*, 29, 77-81.

Endocrinology. **150**(4), 1912-20.

Farin P.W., Ball L., Olson J.D., Mortimer R.G., Jones R.L. (1989) Effect of *Actinomyces pyogenes* and gram negativ anaerobic bacteria on the development of bovine pyometra. *Theriogenology*, **31**, 979-989.

Foldi J., Kulcsar M., Pecsí A., Huyghe B., de Sa C., Lohuis JA., Cox P, Huszenicza G. (2006) Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Repro Sci.*, 96(3-4), 265-81.

FOURNIER R, CHASTANT-MAILLARD S. 2006. Traitements des métrites chroniques chez la vache. *Point Vét. Numéro spécial Reproduction des ruminants : gestation, néonatalogie et post-partum.* 37, 122-128.

Frazier K.S., Baldwin C.A., Pence M., West J., Bernard J., Liggett A., Miller D., Hines M.E. 2nd. (2002) Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic bovine herpesvirus-4. *J Vet Diagn Invest*, 14, 457-62.

GABLER, C, DRILLICH, M, FISCHER, C, HOLDER, C, HEUWIESER, W, EINSPANIER, R. 2009. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology*. 71(6), 993-12.

GAUTAM G, NAKAO T, YUSUF M, KOIKE K. 2009. Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two Japanese dairy herds. *Anim Reprod Sci*. 116, 175-187.

GIER H.T., MARION G.B., 1968. Uterus of the cow after parturition : involutinal changes. *Am. J. Vet. Res.*, 29, 83-96.

GILBERT R.O., BOSU W.T.K., PETER A.T., 1990. The effect of *Escherichia coli* endotoxin on luteal function in Holstein heifers. *Theriogenology*, 33, 645-650.

Gilbert R.O., Shin S.T., Guard C.L., Erb H.N., Frajblat M. (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64, 1879-88.

GROHN Y.T., ERB H.N., McCULLOCH C.E., SALONIEMI H.S., 1990. Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle : associations among host characteristics, disease and production. *Prev. Vet. Med.*, 8, 25-39.

GUILBAULT L.A., THATCHER W.W., DROST M., HOPKINS S.M., 1984. Source of F series prostaglandins during early postpartum period in cattle. *Biol. Reprod.*, 31, 879-887.

HAFEZ E.S.E., 2000. Reproductive cycles. *Reproduction in farm animals*, 7 th edition, HAFEZ B. et E.S.E., Kiawah Island, USA, 55-67.

Hanzen C. (2009) Les infections utérine chez la vache. *Cours de reproduction bovine*. Belgique

HERATH S, LILLY ST, FISCHER DP, WILLIAMS EJ, DOBSON H, BRYANT CE, SHELDON IM. 2009. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2alpha to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology*. 150(4), 1912-20.

HOLT L.C., WHITTIER W.D., GWADZDAUSKAS F.C., VINSON W.E., SPONENBERG P.S., 1989. Involution, pathology and histology of the uterus in dairy cattle with retained placenta and uterine discharge following GnRH. *Anim. Reprod. Sci.*, 21, 11-23.

Hussain A.M, Daniel R.C. (1991) Bovine endometritis : current and future alternative therapy. *Zentralbl Veterinarmed A.*, 38, 641-51.

Hussain A.M. (1989) Bovine uterine defense mechanisms : a review. *Zentralbl Veterinarmed B.*, 36, 641-51.

Iraqi buffalo cows: bacterial causes and treatment. *Reprod Domest Anim*.

Jost B.H., Trinh H.T., Songer J.G., Billington S.J. (2003) Immunization with genetic toxoids of the *Arcanobacterium pyogenes* cholesterol-dependent cytolysin, pyolysin, protects mice against infection. In *Infect Immun*, **71**, 2966-9.

KASIMANICKAM R, CORNWELL JM, NEBEL RL. 2006. Effect of presence of clinical and subclinical endometritis at the initiation of Presynch-Ovsynch program on the first service pregnancy in dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 95(3-4), 214-23.

Kasimanickam R., Duffield T., Foster R.A., Gartley C.J., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H. (2004) Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **62**, 9-23.

KUDLAC E., MIMAR M., VLCEK Z., 1970. Die Beziehung der ausgeschiedenen Geschlechtshormone zur Dynamik der bakteriellen Kontamination der Gebärmutter bei Kühen postpartum. *Fortpfl. Haust.*, **6**, 331-339.

LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Bateman K.G., Keefe G.P., Walton J.S., Johnson W.H. (2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.*, **85**, 2223-36.

LEWIS G.S., THATCHER W.W., BLISS E.L., DROST M., COLLIER R.J., 1984. Effects of heat stress during pregnancy on post-partum reproductive changes in Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, **58**, 174-186.

LEWIS GS. 1997. Symposium: health problems of the postpartum cow. *J Dairy Sci*. **80**, 984-994.

LEWIS GS. 2003. Role of ovarian progesterone and potential role of prostaglandin F₂{alpha} and prostaglandin E₂ in modulating the uterine response to infectious bacteria in postpartum ewes, 2. *J Anim Sci*. **81**, 285-293

LEWIS GS. 2004. Steroidal regulation of uterine immune defenses.

LEWIS GS. 2004. Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci*. **82-83**, 281-294.

LINDELL J.O., KINDAHL H., JANSSON L., EDQVIST L.E., 1982. Postpartum release of prostaglandin F₂α and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, **17**, 237-243.

LOHUIS JACM, COERT M., AGUER D., 1992. Development of a chronic endometritis model in dairy cows. *Proceedings of the 12 th International Congress on Animal Reproduction, La Hague*, **1**: 63-65.

LUGINBUHL A., KUPFER U., 1980. Bakteriologische Befunde im Geschlechtapparat von Kühen im Puerperium. II. Beziehungen zu Uterusinvolution, Ovaraktivität, Beschaffenheit des Cervicalsehms und Fruchtbarkeit. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **122**, 695-705.

MARION G.B., NORWOOD J.S., GIER H.T., 1968. Uterus of the cow after parturition : factors affecting regression. *Am. J. Vet. Res.*, **29**, 71-75.

MIALOT J.P., CONSTANT F., CHASTANT S., PONTER A.A., GRIMARD B., 2001. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications. *Société Française de Buiatrie, Paris*, 163-168.

MILLER AN, WILLIAMS EJ, SIBLEY K. 2007. The effects of *Arcanobacterium pyogenes* on endometrial function in vitro, and on uterine and ovarian function in vivo. *Theriogenology*. 68(7), 972-80.

Narayanan S., Stewart G.C., Chengappa M.M., Willard L., Shuman W., Wilkerson M., Nagaraja T.G. (2002) *Fusobacterium necrophorum* leukotoxin induces activation and apoptosis of bovine leukocytes. *Infect Immun.*, 70, 4609-20.

Noakes D.E., Wallace L.M., Smith G.R. (1990) Pyometra in a Friesian heifer : bacteriological and endometrial changes. *Vet Rec.*, **126**, 509.

Okamoto K., Kanoe M., Watanabe T. (2001) Collagenolytic activity of a cell wall preparation from *Fusobacterium necrophorum* subsp. *Necrophorum*. *Microbios.*, **106** Suppl 2, 89-95.

OPSOMER G, GRÖHN YT, HERTL J, CORYN M, DELUYKER H, DE KRUIF A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*. 53(4), 841-857.

OXENREIDER S.L., 1968. Effects of suckling and ovarian function on postpartum reproductive activity in beef cows. *Amer. J. Vet. Res.*, 29, 2099-2102.

Paisley L.G., Mickelson W.D., Anderson P.B. (1986) Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows : a review. *Theriogenology*, **25**, 352-81.

PETER A.T., BOSU W.T.K., GILBERT R.O., 1990. Absorption of *Escherichia coli* endotoxin (lipopolysaccharide) from the uterus of post-partum dairy cows. *Theriogenology*, 33, 1011-1014.

PETERS A.R., BALL P.J.H., 1995. The Post-partum Period. *Reproduction in cattle*, 2nd ed., Blackwell Science, Oxford, 145-160.

postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. **65**(8), 1516-30.

RECORBET Y. 1987. Biopsie de l'endomètre au cours du post-partum pathologique chez la vache. Thèse Med.Vet. Alfort : 1987, n° 95, 79 p.

Reprod Sci. **82–83**, 281–294.

RISCO C.A., DROST M., THATCHER W.W., SAVIO J., THATCHER M.J., 1994. Effects of calving related disorders on prostaglandins, calcium, ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 42, 183-203.

Roberts S. J. (1986) *Veterinary obstetrics and genital diseases*. *Theriogenology*, Troisième édition, Ann Arbor, Edwards Brothers, Michigan.

ROBERTS S.J., 1971. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*, 2nd ed., Cornell University Press, Ithaca, New York. 776 p.

RUTTER L.M., MANNS J.G., 1987. Hypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cow. *J. Anim. Sci.*, 64, 479-488.

RUTTER L.M., MANNS J.G., 1988. Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Dublin. Abstract N° 66.

Sheldon I.M., Dobson H. (2004) Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.*, **82-83**, 295-306.

Sheldon I.M., Lewis G., LeBlanc S., Gilbert R.O. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, **65**, 1516-30.

Sheldon I.M., Noakes D.E. (1998) Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Vet Rec.*, **142**, 575-9.

SHELDON IM, CRONIN J, GOETZE L, DONOFRIO G, SCHUBERTH HJ. 2009b. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod.* 81(6), 1025-32.

SHELDON IM, DOBSON H. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 82-83, 295-306.

SHELDON IM, LEWIS GS, LEBLANC S, GILBERT RO. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology.* **65**(8), 1516-30.

SHELDON IM, NOAKES DE, DOBSON H. 2000. The influence of ovarian activity and uterine involution determined by ultrasonography on subsequent reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 54(3), 409-19.

SHELDON IM, PRICE SB, CRONIN J, GILBERT RO, GADSBY JE. 2009a. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 44(3), 1-9.

SHORT R.E., BELLOWS R.A., MOODY E.L., HOWLAND B.E., 1972. Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction. *Journal of Animal Science*, 34, 70-74.

SHRESTHA HK, NAKAO T, HIGAKI T, SUZUKI T, AKITA M. 2004. Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology.* 61(4), 637-649.

SINGH J, MURRAY RD, MSHELIA G, WOLDEHIWET Z. 2008. The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *Vet J.* **175**(3), 301- 309.

SLAMA H., 1996. Prostaglandines, leucotriènes et subinvolution utérine chez la vache. *Rec. Méd. Vét.*, 173(7/8), 369-381.

SLAMA H., VAILLANCOURT D., GOFF A.K., 1991. Pathophysiology of the puerperal period relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, 36, 1071-1090.

SUBANDRIO AL, SHELDON IM, NOAKES DE. 2000. Peripheral and intrauterine neutrophil function in the cow: the influence of endogenous and exogenous sex steroid hormones. *Theriogenology.* 53(8), 1591-1608.

switch from prostaglandin F2alpha to prostaglandin E2 in bovine endometrium.

THIBAUT C., COUROT M., MARTINET L., MAULEON P., DE MESNIL DU BUISSON F., ORTOVANT R., 1966. Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. *J. Anim. Sci.*, suppl.25, 119-142.

VIGHIO G.H., LIPTRAP R.M., ETHERINGTON W.G., 1991. Oxytocin-prostaglandin interaction in the cow with pyometra. *Theriogenology*, 35(6), 1121-1129.

WAGNER W.C., HANSEL W., 1969. Reproductive physiology of the postpartum cow. I. Clinical and histological findings. *J. Reprod. Fert.*, 18, 493-500.

Williams E.J., Fischer D.P., Pfeiffer D.U., England G.C., Noakes D.E., Dobson H., Sheldon I.M. (2005) Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-17.

WILLIAMS EJ, FISCHER DP, NOAKES DE, ENGLAND GC, RYCROFT A, DOBSON H, SHELDON IM. 2007. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*. **68**(4), 549-10.

WILTBANK J.N., COOK A.C., 1958. The comparative reproductive performances of.

Wittenbrink M.M., Kirpal G., Thiele D., Fischer D., Krauss H., Bisping W. (1994) Detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal discharge of cows: a necessary enlargement of bacteriologic diagnosis for the etiologic clarification of fertility disorders in the female cow. *Zentralbl Veterinarmed B.*, 41, 492-503.

YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. 2007. Current therapy in large animal theriogenology. Vol. 2. Saunders-Elsevier edition, Philadelphia (USA) Chap. 44, 339-344.

Zerbe H., Obadnik C., Leibold W., Schuberth H.J. (2002) Lochial secretions of *Escherichia coli* and *Arcanobacterium pyogenes*-infected bovine uteri modulate the phenotype and the functional capacity of neutrophilic granulocytes. *Theriogenology*, 57, 1161-1177.