

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

*LA COMPARAISON ENTRE
L'HISTOLOGIE ET LA CYTOLOGIE POUR
LE DIAGNOSTIC DES ENDOMETRITES
CHEZ LA VACHE*

PRESENTE PAR :

Mlle Mahmoudi Kheira
Mlle Otmane Leila

ENCADRE PAR :

Dr Ayad Mohamed Amine



REMERCIEMENTS

« qui conque ne remercie pas les gens, ne remercie pas DIEU»

Par ces quelques mots, nous souhaitons remercier toute personne ayant contribué à la réussite du mémoire qui a nécessité l'aide et le soutien de chacune des personnes que je vais citer :

En premier lieu, Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance à **Dr Mr.AYAD Amine**, notre enseignant- tuteur, qui nous a beaucoup soutenues tout au long de la rédaction de ce mémoire ; nous a guidées tout au long de cette période et a magistralement supervisé notre travail au jour le jour. Tous nos vifs remerciements à cette personne qui, grâce à son professionnalisme, nous a proposé toutes les stratégies qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

En deuxième lieu, j'exprime toute ma gratitude à **Mr. DERRAR Sofiane** et **Mr. SAYEM Said** nos tuteurs (remplaçants), qui nous ont offert tout un panel encyclopédique de conseils, d'aides, et d'expertises lors de notre formation et qui nous ont initiées à la vie professionnelle et guidées à gagner la confiance en nos capacités, sans oublier ses précieux conseils qui nous ont permis avec excellence de progresser sans cesse. Ainsi que à **Mr. HOUARI Hmida**, qui nous a aidés en ce qui concerne la lecture des lames.

En troisième lieu, Je tiens à témoigner ma profonde gratitude envers **Mr. AMARA, MR. KHIATI, M^{me} GHAZI, M^{me} RAHAI, Mr ABDELHADI** et tous les enseignants qui ont contribué, durant ces dernières années, à notre formation et à tous ceux qui nous ont aidés.

En dernier lieu, je remercie également tout le personnel administratif en particulier Mr le directeur, les adjoints de l'éducation, les enseignant(e)s,...

Tous nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui nous ont aidées et conseillées tout au long de notre cursus universitaire.

DEDICACE

La vie est un éternel recommencement, elle nous comble de ses vertus et nous arrache des larmes de joie ou de dépit. Ainsi arrivés à chaque détour on se voit obligé et contraint de jeter un regard vers ce passé vers ces visages qui nous ont hissé vers ce sommet auquel la nature humaine aspire.

La joie de ce moment, le couronnement d'un cycle avec ses joies et ses peines me fait revenir en mémoire ces personnes qui m'ont aidée et à qui je dédie ce modeste travail.

Tout d'abord, louange à Allah de m'avoir éclairé le chemin, de m'avoir donné la persévérance, la volonté, le courage et la patience pour pouvoir terminer mon cursus d'apprentissage et réaliser ce travail.

Priorité sera donnée aux proches parents :

Ma très chère mère ;

Comment pourrai-je dire ? Les lettres sont insuffisantes pour te montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblée avec ta tendresse tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler. En ce jour, j'aurai l'occasion d'exprimer ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Que le Tout Puissant te donne santé, bonheur et longue vie afin de me permettre de te rendre le minimum de ce que tu m'as offert.

Mon très cher père,

Aucun mot, aucune expression ne saurait exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience infinie, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu m'as toujours apporté. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai, je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, et te protège de tout mal.

A vous mes chers sœurs Imene l'infirmière son époux Sahraoui le médecin kinési, Sarah l'enseignante, Mimi Amina la cadette et surtout notre poupon, mon neveu Mohamed Amine, sans oublier ma sœur unique la plus chère qui nous a quitté Khalida qui est toujours dans mes pensées.

A tous mes chers (es) amis(es) de près ou de loin Tous mes camarades de promotion.

A vous tous, je dédie ce travail qui j'espère, vous apportera entière satisfaction.

DEDICACE

A mes parents,

Qui n'ont cessé d'être là tout au long de mes études, à assurer mon confort et ma réussite Scolaire, bien que je n'ai pas toujours été facile...

Vous êtes les premiers responsables de ce qui m'arrive aujourd'hui, je vous aime fort ...

A mon père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma Maman,

Sans qui mon rêve de devenir vétérinaire n'aurait jamais été réalisable, Car chacun de tes petits gestes du quotidien a fait la personne que je suis aujourd'hui,

Merci d'avoir fait passer nos vies avant la tienne, Avec tout mon amour, infinis remerciements

A mes frères Sofiene , Mohamed , Kadi

A mes sœurs : Nawel,Nardjes , vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma chère tante qui n'est plus que dieu l'accueilli a son vaste paradis

A ma chère cousine mokhtaria

A mes beaux frères khaled et ali

A mes neveux :Youcef,Achraf,Hichem ,Anes et Redha

A mes nièces Rawnaq et Lina

A tous mes amis dont je peux citer Ghaoutia, Nacera, Kheira et Sihem

Ainsi a toute la promotion de 5^{EME} Année docteur vétérinaire

SOMMAIRES

| | |
|---|-----------|
| LISTE DES TABLEAUX..... | 7 |
| LISTE DES FIGURES..... | 8 |
| INTRODUCTION..... | 9 |
| RESUME..... | 11 |
| CHAPITRE I La biopsie utérine..... | 13 |
| I Les principes de la biopsie utérine..... | 14 |
| 1)-La technique..... | 15 |
| 1-a) -Le prélèvement de matériel endométrial..... | 15 |
| 1-a-1)- Le site de prélèvement..... | 15 |
| 1-a-2)-Le matériel..... | 17 |
| 2)-La réalisation de la biopsie utérine..... | 18 |
| a) Chez la vache..... | 18 |
| b)- Chez la jument..... | 19 |
| Biopsie trans-cervicale..... | 19 |
| c)- Chez la chienne..... | 21 |
| c-1)-par laparotomie..... | 21 |
| c-2)-par chirurgie..... | 21 |
| 3)-La préparation du tissu pour l'examen histologique..... | 22 |
| 4)- Les complications les plus fréquentes de la biopsie..... | 23 |
| Bilan..... | 24 |
| II L'analyse histologique de la biopsie utérine dans la recherche d'endométrite..... | 25 |
| 1)-L'intérêt de l'histologie chez toutes les espèces..... | 25 |
| 2)- L'histologie physiologique de l'endomètre..... | 26 |
| a)- Modifications au cours du cycle œstral..... | 26 |
| b)- Modifications associées à l'involution utérine chez la vache..... | 31 |
| b-1)- Modifications anatomiques..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| b-2)-Modifications histologiques..... | 32 |
| b-2-a)- Elimination tissulaire et des lochies..... | 32 |
| 2.2. Infiltration leucocytaire..... | 33 |
| 2.3. Vasoconstriction..... | 33 |
| 2.4. Contractions utérines..... | 34 |
| III Corrélation entre les lésions histologiques et les paramètres de reproduction..... | 35 |
| 3-a)-Chez la vache..... | 35 |
| 3-a-1)-Les lésions histologiques caractéristiques d'infertilité..... | 35 |
| 3-a-2) Prévion des animaux infertiles en fonction de leur lésion histologique..... | 36 |
| 4)- L'examen histologique dans le diagnostic d'endométrite chez la vache..... | 38 |
| CHAPITRE II : Cytologie endometriale..... | 43 |
| 1)-PRINCIPE..... | 44 |
| 2)-LE MAIERIEL..... | 45 |
| a)- Pour la préparation de l'animal..... | 45 |
| b)-Pour la récolte des cellules..... | 45 |
| b-1)-La méthode de prélèvement par cytobrosse..... | 45 |
| b-2)-La méthode par lavage utérin..... | 47 |
| c)-Comparaison des deux techniques..... | 49 |
| 3)- Aspect d'une cytologie normale..... | 55 |
| a) Variations de la cytologie en fonction de la partiedu tractus génital prélevée..... | 55 |
| b) Variation de la cytologie utérine au cours du cycleœstral..... | 55 |
| c) Variation de la cytologie génitale post-partum..... | 57 |
| 4)- Concordance avec la fertilité..... | 59 |
| CONCLUSION..... | 62 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 63 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----------|
| <u>Tableau(01)</u> : Gradation du degré d'inflammation dans l'endomètre chez la vache..... | 28 |
| <u>Tableau(02)</u> : Evaluation des biopsies endométriales chez la vache..... | 29 |
| <u>Tableau(03)</u> : Classification des lésions d'endométrites chez la vache..... | 29 |
| <u>Tableau(04)</u> : Gradation des endométrites selon Hartigan et al (1972) | 30 |
| <u>Tableau(05)</u> : Variation du taux de neutrophiles cervical au cours du cycle chez la vache.... | 57 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| <u>Figure (01):</u> Aspect histologique d'utérus non-gravidique de vache..... | 16 |
| <u>Figure (02):</u> Morphologie utérine..... | 16 |
| <u>Figure (03):</u> Pince à biopsie..... | 17 |
| <u>Figure (04) :</u> Technique de biopsie utérine trans-cervicale chez la jument..... | 20 |
| <u>Figure (05):</u> Le cycle œstral de la vache..... | 26 |
| <u>Figure (06):</u> Les différentes formes d'endométrites selon (Dubuc et al 2010)..... | 38 |
| <u>Figure (07):</u> Matériel d'utilisation de la cytobrosse (Deguillaume, 2007)..... | 46 |
| <u>Figure (08):</u> Cytobrosse et système de fixation au pistolet d'insémination (Deguillaume, 2007) | 46 |
| <u>Figure (09):</u> Montage d'adaptation de la cytobrosse chez la vache..... | 47 |
| <u>Figure (10):</u> Utilisation d'une sonde à ballonnet pour le lavage utérin CHEZ la jument..... | 48 |
| <u>Figure (11):</u> Préparation des lames cytologiques..... | 49 |
| <u>Figure (12):</u> exemple de cellules..... | 52 |
| <u>Figure (13):</u> Examen cytologique d'un frottis utérin obtenu par cytobrosse..... | 53 |
| <u>Figure (14):</u> Courbe ROC permettant d'établir le taux seuil de neutrophiles entre 20 et 33 jours PP chez la vache..... | 59 |

L'endométrite est une maladie inflammatoire, elle est responsable de troubles de la fertilité dans de nombreuses espèces. L'examen cytologique endométrial a été proposé pour la première fois par **(Gilbert *et al.* 1998)** chez les bovins, puis repris par **(Kasimanickam *et al.* 2004)**, pour démontrer l'existence de formes subcliniques d'endométrite.

Chez la jument, la cytologie endométriale est couramment employée pour la diagnostiquer, tandis que chez la vache et la chienne, cette technique est en cour de validation. La cytologie endométriale est actuellement considérée comme l'examen de référence pour le diagnostic de l'endométrite chez la vache entre 21 et 35 jours post-partum, la cytologie n'évalue l'inflammation qu'à travers un prélèvement réalisé dans la lumière utérine et/ou sur la partie superficielle de l'endomètre. De plus, si le prélèvement est réalisé par écouvillonnage avec une cytobrosse, il n'évalue qu'un endroit très localisé de l'appareil génital (environ un cm² du corps utérin) d'autres espèces, comme la jument ou la femme, l'examen cytologique endométrial fait partie des techniques communément utilisées depuis de nombreuses années dans le diagnostic des endométrites, endométrioses et maladies inflammatoires pelviennes **(Riddle *et al.*, 2007 ; Leblanc *et al.*,2009)**.

L'examen cytologique du contenu utérin est une méthode rapide et peu coûteuse et consiste à vérifier la nature de tout fluide présent et pour déterminer la présence de cellules inflammatoires **(Villiers et Dunn., 1998)**. L'examen cytologique endométrial, plus facile à l'utilisation que la biopsie utérine, est considéré depuis 2004 chez la vache, comme technique de référence pour l'évaluation du statut inflammatoire de l'appareil génital, par dénombrement des leucocytes infiltrés dans la muqueuse. L'examen histologique donne des informations de très bonne qualité sur le statut inflammatoire de l'endomètre, par évaluation de la population infiltrée et des lésions de la muqueuse utérine **(Chapwanya *et al.* 2009 ; Studer *et al.* 1978)**.

Cependant, l'utilisation de la biopsie utérine pendant de nombreuses années s'est donc limitée à des essais *in vivo* ou a des cas isolés. Son utilité et sa valeur pronostique ont donc été ignorées à cause de sa difficulté d'emploi (cathétérisme cervical) et de son risque d'altération des performances de reproduction. Si son innocuité était confirmée par d'autres travaux, le délai nécessaire à l'analyse histologique ainsi que son cout, bien supérieur a celui d'un frottis cytologique, constitueront néanmoins des freins à son utilisation à grande échelle.

Durant la gestation, l'utérus est un environnement stérile qui permet le développement du fœtus. À la suite du vêlage, l'utérus de presque toutes les vaches est contaminé par des bactéries d'origine environnementale et ce phénomène est considéré comme normal. Au cours des six semaines qui suivent le vêlage, cet organe retrouve sa taille normale et son intégrité tissulaire. Durant cette période, 70 % à 80 % des vaches éliminent les bactéries qui y sont présentes. Pour les autres, la persistance des bactéries peut causer une endométrite.

L'endométrite est une inflammation de l'endomètre, la muqueuse qui tapisse l'intérieur de l'utérus. Elle est responsable de troubles de la fertilité dans de nombreuses espèces. Elle se diagnostique habituellement chez les vaches ayant plus de 21 jours de lactation.

Chez la vache l'endométrite subclinique est impossible à détecter lors d'un examen clinique de routine dans notre thèse on a abordé deux méthodes pour la diagnostiquer qui sont la biopsie utérine et la cytologie endométriale

La cytologie endométriale qui est technique de référence peut être faite en prélevant un échantillon des cellules de l'endomètre dans le but d'évaluer la présence de neutrophiles (cellules inflammatoires, globules blancs). La méthode la plus courante pour effectuer cette collecte de cellules se fait par l'utilisation de la cytobrosse ou lavage utérin.

L'examen histologique de l'endomètre fournit de nombreux détails sur l'inflammation endométriale, des détails précis sur les lésions, et permet une évaluation des différents éléments tissulaires. Cet examen a une sensibilité de 44% et une spécificité de 92 % pour diagnostiquer les endométrites subcliniques mais ses inconvénients sont le coût élevé et ça longue durée

During pregnancy, the uterus is a sterile environment allowing the developing fetus

After calving, the uterus of almost all cows is contaminated with environmental bacteria, and this phenomenon is considered normal. In the six weeks following calving, this body returns to its normal size and tissue integrity.

During this period, 70% to 80% of cows eliminate bacteria present in the reproductive tract. For others, the persistence of bacteria can cause endometritis.

Endometritis is an inflammation of the endometrium, the lining of the inside of the uterus. It is responsible for fertility disorders in many species. It is usually diagnosed in cows over 21 days post calving.

A subclinical endometritis in cows is impossible to detect during a routine physical examination. In our thesis we discuss two methods to diagnose which are the uterine endometrial biopsy and cytology.

The endometrial cytology is the reference technique. It can be done by taking a sample of endometrial cells in order to assess the presence of neutrophils (inflammatory cells, white blood cells). The most common method to make this collection of cells is done by using cytobrush or uterine washing.

Histological examination of the endometrium provides many details on endometrial inflammation, specific details of the lesions and allows an evaluation of the various tissue elements. This examination has a sensitivity of 44% and a specificity of 92% for diagnosing subclinical endometritis but its disadvantages are the high cost and long duration to perform.

CHAPITRE I

La biopsie utérine

Chapitre I : la biopsie utérine

I Les principes de la biopsie utérine :

La méthode de réalisation du prélèvement doit être rapide, répétable, permettre d'obtenir des échantillons homogènes de haute qualité et ce sans nuire à la santé animale.

Ainsi, concrètement, il faut penser à la stérilisation de l'outil de biopsie pour prévenir une contamination utérine, et la manipulation du tissu est extrêmement importante pour éviter des artefacts gênant la lecture microscopique.

Quant aux nombres de spécimens à prélever, les auteurs ne sont pas tous d'accord sur ce point. Il était recommandé de prélever chaque utérus de vache à trois endroits différents afin d'avoir une vue histopathologique d'ensemble. En effet, ces derniers rapportent qu'on peut retrouver des degrés de fibrose différents de façon simultanée sur un utérus donné. En équine, les auteurs ont aussi des avis divergents à ce sujet. Ces dernières décennies, plusieurs études ont montré qu'une seule biopsie utérine de jument examinée pour la recherche de processus inflammatoires et dégénératifs était représentative de l'ensemble de l'utérus selon Doig et Kenney (1986), si aucune anomalie n'a été détectée à la palpation utérine (forme, taille, texture), une seule biopsie suffit pour représenter l'endomètre dans sa totalité. Si à la palpation, des zones différentes sont détectées, chacune de ces zones doit être biopsiée (Wyers et Rey 1987) confirment que la pratique d'une double biopsie n'est pas indispensable mais permet cependant de réduire les causes d'erreur ou les problèmes d'interprétation.

Par contre, il est intéressant de réaliser deux biopsies séparées dans le temps, afin d'évaluer l'efficacité du traitement ou pour contrôler l'évolution d'une lésion (Wyers et Rey, 1987). Néanmoins En(2010, Fiala et al) ont confirmé par une étude consacrée à l'évaluation de l'endométrite chronique dégénérative qu'une seule biopsie d'utérus n'était pas révélatrice du statut de l'utérus dans sa totalité. Cette étude comprenait un échantillon de 40 juments sur lesquelles 3 sites de l'utérus ont été biopsiés (corne gauche, droite, et corps utérin) et classés selon une adaptation de la classification de Kenney et Doig (1986). Les 3 portions d'endomètre n'étaient classées dans la même catégorie que par 30% des juments. Ceci remet en cause l'étude de (Bergman et Kenney 1975) qui avait démontré sur un échantillon de 16

Chapitre I : la biopsie utérine

juments, qu'une seule biopsie était représentative de la totalité de l'utérus en comparant le type, le degré et la distribution de l'inflammation, le degré et la distribution de la fibrose et la présence ou absence de lacunes lymphatiques

1)-La technique :

1-a) -Le prélèvement de matériel endométrial :

1-a-1)- Le site de prélèvement :

La paroi utérine se compose d'une séreuse, le périmétriun, d'une musculuse, le myomètre, et d'une muqueuse, l'endomètre (figures 1). L'endomètre correspond à la muqueuse qui tapisse le corps utérin et les cornes utérines. Il est formé d'un epithelium colonnaire et simple chez la vache, cuboïde à prismatique chez la chienne et la jument, et peut être stratifié à pseudo-stratifié chez les ruminants et le porc, avec deux types de cellules (ciliées et non ciliées de type sécrétoire) et d'un stroma.

Le stroma endométrial (la *propria mucosae*) est subdivisé en un *stratum compactum* caractérisé par un conjonctif lâche très riche en cellules (fibroblastes, macrophages, lymphocytes, éosinophiles) et plus en profondeur en un *stratum spongiosum* riche en fibres de collagène (**Barone, 1990**). Le stroma est infiltré par des cellules en provenance du sang (lymphocytes, granulocytes, plasmocytes).

Il contient aussi des glandes utérines, tubulaires, dont l'épithélium est en continuité avec celui de l'endomètre mais les cellules y sont davantage sécrétrices . Chez les ruminants, certaines régions de l'endomètre, les caroncules, sont non glandulaires (**Bacha et Bacha, 2010**).

L'objectif de la biopsie utérine est de prélever un spécimen représentatif de l'endomètre comprenant l'épithélium, le *stratum compactum* et le *stratum spongiosum*. Pour ce faire, l'outil à biopsie doit venir au contact de la paroi utérine et sectionner, à l'aide de bords tranchants, un échantillon de la totalité de l'épaisseur de l'endomètre

Chapitre I : la biopsie utérine

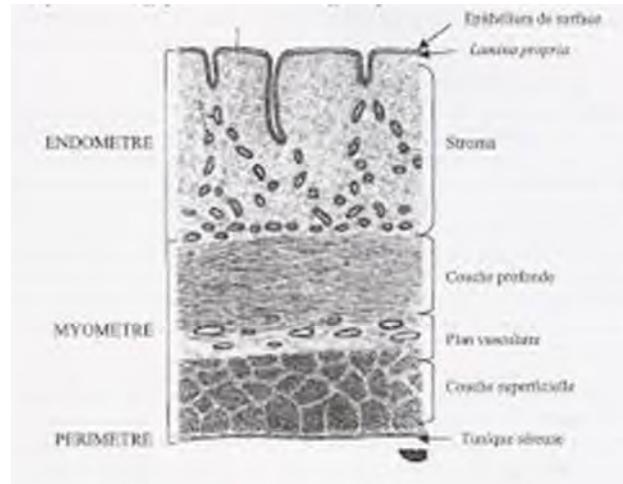


Figure (01): Aspect histologique d'utérus non-gravidique de vache

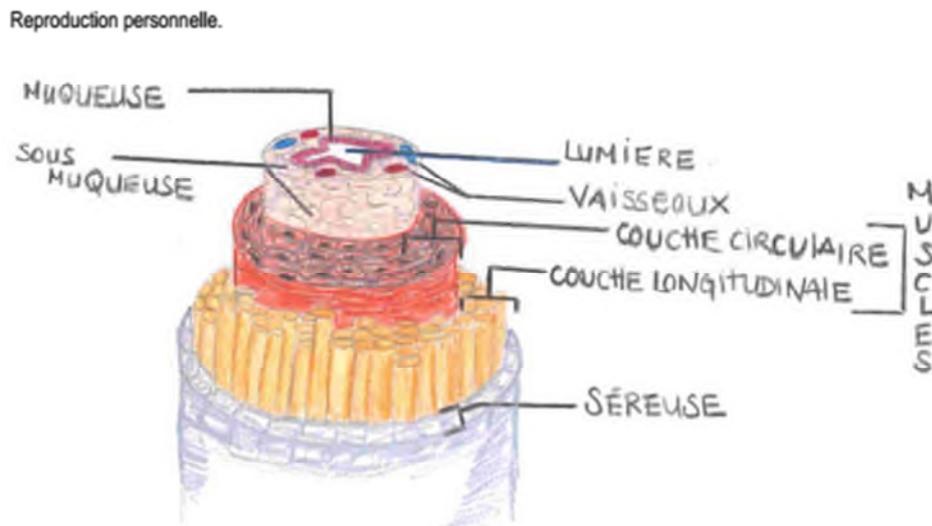


Figure (02): Morphologie utérine

Chapitre I : la biopsie utérine

1-a-2)-Le matériel :

La pince doit être suffisamment longue pour atteindre la base des cornes utérines (60-70 cm) et permettre un prélèvement d'au moins 20×3×3 mm



Figure (03) : Pince à biopsie

Grace a la technique du double gant, la pince est introduite avec les mors fermes a travers le col de l'utérus puis poussée délicatement jusqu'a la base d'une préférentiellement celle ou a été constatée des anomalies (liquide, kystes, zone hyperechogene). La main externe non gantée maintenant la pince est alors basculée a 90° pour placer les mors dans un plan horizontal. La main gantée est alors retirée du vagin pour aller suivre la pince grâce à une palpation transrectale et pousser le tissu entre les mors de la pince. Le fragment obtenu est place directement dans du liquide de Bouin ou du formol 10%.

Après inclusion, coupe, montage sur lame et coloration, le prélèvement est interprété (**Betsch, 1992; Betsch, 2003 b**). Il est admis que cet échantillon de petite taille par rapport a la surface endometriale est représentatif de l'endomètre dans son ensemble (**Kenney, 1978**).

Néanmoins, il n'est pas représentatif de l'uterus en entier et nous verrons par la suite que cela peut constituer une limite dans l'analyse des angiopathies uterines.

Chapitre I : la biopsie utérine

2)-La réalisation de la biopsie utérine :

a) Chez la vache :

Bien qu'on puisse réaliser, sur des vaches âgées, cette biopsie durant le diœstrus (phase au cours de laquelle on aurait la meilleure lecture histologique des lésions), il est préférable de la réaliser durant l'œstrus car elle est plus facile à réaliser, moins traumatique et moins contaminante. En contrepartie, comme le soulignent (**Manspeaker et al 1984**), si la vache est atteinte d'endométrite, il sera difficile de la diagnostiquer par confusion avec la présence physiologique de neutrophiles à ce stade du cycle. Et comme chez la jument, un examen transrectal est réalisé au préalable, ainsi qu'un examen au vaginoscope afin d'objectiver ou non des écoulements utérins anormaux (**Kenney et Doig, 1986**).

Dans un premier temps, la région périnéale et la vulve de l'animal sont nettoyées afin d'éviter une infection iatrogène de l'appareil génital. On va utiliser une pince à biopsie stérilisée (**Chaffaux et al, 1987**) ou protégée dans une gaine (**Chapwanya et al, 2010**).

Elle est introduite jusqu'à l'orifice postérieur du col à l'aide d'une main gantée passée par voie vaginale, puis cette même main va passer par voie rectale pour tenir le col et réaliser le cathétérisme cervical, complexe chez la vache en raison de la présence de trois anneaux cervicaux. Lorsque la pince est placée dans une gaine de protection, cette dernière est rompue au niveau de l'orifice externe du col. La pince est poussée dans une corne utérine, 3 à 5 cm en avant de la bifurcation.

A ce niveau, on ouvre les mors de la pince et la main en position rectale, on pousse la paroi utérine de telle sorte à engager la muqueuse entre les mors de la pince. La pince est retirée du tractus génital avec le matériel de prélèvement entre ses mors (**Chaffaux et al, 1987**). Bien que cette technique ait été considérée comme délétère dans le passé par les études de (**Zaayer et Van der Horst 1974 et de Miller et al 1980**), il a été

Chapitre I : la biopsie utérine

démontré plus tard que réaliser des biopsies endométriales n'était pas nuisible et ne présentait en particulier pas d'effets délétères sur la fonction de reproduction de la vache. De plus, il apparaît que chez les vaches infertiles, l'examen bactériologique de l'utérus serait plus facilement réalisable à partir d'une biopsie que d'un écouvillon (Messier et al, 1984) .

b)- Chez la jument :

Biopsie trans-cervicale :

De par la facilité du cathétérisme cervical à tous les stades du cycle chez la jument, la biopsie est techniquement réalisable à tout moment (Kenney, 1978 ; Doig et Kenney, 1986 ; Noakes et al, 2009). Néanmoins, du fait de l'influence de la progestérone sur l'apparition des glandes utérines, certains préfèrent réaliser la biopsie durant le diœstrus afin d'évaluer l'activité des glandes endométriales qui sont nombreuses et circonvolutionnées (Tibary et Bakkoury, 1994). Par contre, le fait de manipuler l'utérus après l'œstrus favoriserait la lutéolyse prématurée (Kenney, 1978), ce qui ne pose pas de problème majeur puisque la jument ne sera pas mise à la reproduction avant d'avoir diagnostiqué la cause de son infertilité. D'autres préfèrent un prélèvement durant les chaleurs car le col est plus facile à traverser (Noakes et al, 2009) et la présence d'un œdème facilite l'observation des modifications cicatricielles (Tibary et Bakkoury, 1994).

Deux techniques sont décrites pour le prélèvement de tissu utérin. Dans «la méthode vaginale» (Carleton, 1997), l'index placé dans le col aide à plaquer l'instrument à biopsie contre l'endomètre. Dans la seconde méthode «recto-vaginale» (Kenney, 1978), on vide le rectum et une palpation détaillée de l'appareil génital est réalisée par voie transrectale (Greenhoff et Kenney, 1975).

Après nettoyage-désinfection de la vulve et de la région périnéale, l'outil à biopsie est placé dans un gant stérile plutôt que dans un spéculum qui ouvre le vagin au microbisme environnant. Un gant stérile, lubrifié avec du gel chirurgical stérile et sans composant chimique bactériostatique, recouvre le bras

Chapitre I : la biopsie utérine

passé par voie vaginale pour amener l'instrument à travers le vagin jusqu'au col.

Quand l'instrument à biopsie est dans l'utérus, la main gantée passe dans le rectum : elle permet d'exercer une pression ventrale sur le vagin pour faire disparaître un pneumovagin éventuel. Cette même main dirige et localise le bout de l'instrument à l'entrée de la corne droite ou gauche (figure 04) . Les mors sont alors ouverts, refermés pour pincer et couper une portion de l'endomètre (**Doig et Kenney, 1986**).

La biopsie endométriale renseigne de façon fiable sur les remaniements de l'endomètre (**Overbeck et al, 2011**). Quant à l'innocuité de ce procédé, sur 600 biopsies endométriales réalisées par (**Doig et Kenney 1986**), aucun effet secondaire n'a été relevé chez les juments prélevées. Les auteurs affirment même qu'on pourrait réaliser la biopsie pendant l'œstrus après la monte sans interférer avec la gestation (**Doig et Kenney, 1986**). (**Britton (1982)** confirme l'innocuité de cette technique en réalisant un frottis cytologique 48 heures après la biopsie afin d'évaluer une potentielle inflammation. (**Gross et LeBlanc 1984**) ont montré que douze biopsies réalisées au même endroit n'augmentaient pas l'incidence de la fibrose.

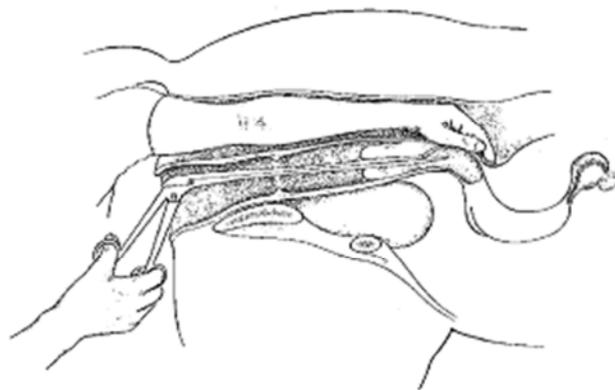


Figure (04) : Technique de biopsie utérine trans-cervicale chez la jument

Chapitre I : la biopsie utérine

c)- Chez la chienne :

c-1)-par laparotomie :

La réalisation de biopsies utérines par laparotomie, en raison de son côté invasif, a long temps découragé bon nombre de vétérinaires. Pourtant, cette approche est parfois proposée en gynécologie humaine lorsque l'infertilité demeure inexplicquée. Elle représente en outre une technique de choix pour obtenir des prélèvements histologiques et bactériologiques de bonne qualité, plus à même de refléter le véritable statut utérin de l'animal concerné.

L'étude réalisée concerne Au cours d'une laparotomie, leurs ovaires et leurs utérus sont examinés macroscopiquement.

Une incision longitudinale de 1cm est ensuite réalisée au scalpel (lame de 10), soit au niveau de zones utérines jugées anormales"(par leur aspect ou à la palpation de l'organe),soit au milieu de chaque corne utérine si rien n'est décelé. Les pièces d'exérèse ainsi récupérées sont identifiées et placées dans du formol pour une analyse histologique.

c-2)-par chirurgie :

les biopsies chirurgicales apparaissent comme de bons outils pour les diagnostiquer. Elles permettent au vétérinaire de repérer des lésions focales et de pratiquer des biopsies sur les sites qui lui semblent suspects. Les contaminations bactériennes par le contenu du vagin ne perturbent pas l'interprétation des résultats puisque les échantillons sont strictement utérins. Cependant, chez toutes ces chiennes, aucun agent infectieux n'est mis en évidence : le rôle de bactéries pathogènes dans ces processus, qui étaient à l'origine suspectées, serait peut-être surestimé.

La procédure, bien que chirurgicale, est aisée à réaliser et offre la possibilité d'analyser l'intégralité des différentes couches de l'utérus, de sa muqueuse interne, l'endomètre et ses couches glandulaires et musculaires.

Chapitre I : la biopsie utérine

Malgré le côté invasif de cet examen, le destiner à des chiennes restées plusieurs fois vides se justifie, car il permet d'établir un diagnostic clair et d'orienter les démarches pour proposer un traitement.

3)-La préparation du tissu pour l'examen histologique

Le protocole classiquement utilisé pour la préparation du tissu biopsié est équivalent en médecine humaine (Cicinelli et al, 2005) et en médecine vétérinaire. Le spécimen est délicatement retiré des mors de l'instrument de biopsie avec une aiguille

hypodermique stérile (Doig et Kenney, 1986). Il est fixé dans une solution de formol à 10%. Après 2 à 24h dans la solution, avec un ratio de 1 pour 10 entre le spécimen et le volume de fixateur, l'échantillon est transporté jusqu'au laboratoire. Les prélèvements sont ensuite inclus dans de la paraffine et des coupes de 4-6 μm d'épaisseur (Chaffaux et al, 1987 ; Bonnet et al, 1991 ; Chapwanya et al, 2010). Les lames sont colorées avec de l'hémalum-éosine (Chaffaux et al, 1987 ; Chapwanya et al, 2010 ; Mir et al, 2013). Un protocole plus complexe a été proposé par (Christensen et al 2012). Chaque tissu est placé dans une solution de paraformaldéhyde à 4% pendant 24h et ensuite dans une solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) pendant 24h.

Chaque échantillon est par la suite passé dans des bains à 30%, 50% puis 70% d'éthanol sur 24 heures avant l'inclusion en bloc de paraffine, coloré avec de l'hématoxyline de Shandon (colorant nucléaire) puis avec du substitut d'eau du robinet de Scott (réactif de « bleuissement » de la chromatine et des membranes nucléaires, qui diminue les pertes d'adhérence entre la coupe et les lames en verre).

Une quarantaine de colorants sont également utilisés dans les laboratoires pour mettre en évidence des molécules/structures particulières. Certains soulignent la matrice extracellulaire (trichrome de Masson), le noyau (acide périodique de Schiff), les mastocytes (Giemsa) et d'autres permettent l'identification d'agents

Chapitre I : la biopsie utérine

infectieux. De par leur coût élevé, leur emploi est limité. Par exemple, dans une étude (**d'Overbeck et al 2013**), le naphthol-AS-Dchloracétate-estérase (CIAE) était utilisé pour colorer les neutrophiles en rouges.

Une autre méthode de marquage est l'immunohistochimie. Les limites de ce procédé sont son coût et le manque de consensus scientifique pour déterminer les réactions non spécifiques (éviter les faux positifs) . Il serait intéressant de définir quelle protéine cibler afin d'améliorer la lecture ou d'affiner le pronostic

4)- Les complications les plus fréquentes de la biopsie

- risque de dégénérescence maligne. C'est-à-dire qu'il y a transformation d'une lésion bénigne chronique en cancer. Il est causé à la suite du traumatisme représenté par l'acte lui-même. Il y a également un risque d'aggravation d'un processus malin évolutif. Certaines tumeurs, notamment les tumeurs vasculaires sont susceptibles de voir leur potentiel évolutif augmenté. Car lors de la biopsie, on provoque une effraction vasculaire et donc un risque de dissémination des cellules cancéreuses. Lorsque la lésion est franchement maligne, ou que sa nature, sa taille ou sa localisation posent problème, la biopsie peut donc être contre-indiquée pour des raisons de faisabilité ou de compétence. Il devient alors préférable d'adresser le patient à des praticiens plus spécialisés ;
- risque hémorragique grave. En effet, un traumatisme des vaisseaux sanguins non visualisé peut entraîner une hémorragie lors de l'introduction du trocart. La lésion d'un organe de voisinage est également possible, mais reste tout de même plutôt rare ;
- désorganisation tissulaire de nature inflammatoire. Cette désorganisation est susceptible de désorienter ou de gêner l'appréciation de la thérapeutique par le praticien à qui le patient sera confié.

De nos jours la biopsie est radio-guidée, c'est-à-dire guidée grâce à la radiographie. De plus, elle est effectuée par des opérateurs qui s'avèrent être de plus en plus expérimentés.

Chapitre I : la biopsie utérine

Bilan :

La biopsie est une technique invasive qui requiert un équipement spécial et d'un laboratoire. L'examen des résultats sont disponibles avec un certain décalage

dans le temps (transport, analyse, transmission des résultats), autour d'une à deux semaines. Ainsi sa pertinence pratique est souvent réduite à des cas particuliers (**Overbeck et al, 2011**).

II L'analyse histologique de la biopsie utérine dans la recherche d'endométrite

1)-L'intérêt de l'histologie chez toutes les espèces

Chez la vache, l'examen de l'utérus après vêlage se fait traditionnellement par palpation transrectale et/ou par examen des sécrétions vaginales. Ces techniques sont d'une valeur diagnostique limitée pour le diagnostic de l'inflammation génitale : la palpation transrectale est une technique subjective et l'échographie surestime le nombre d'animaux malades (**Barlund et al, 2008 ; Deguillaume et al, 2009**). L'objectif de l'examen histologique est de mettre en évidence une inflammation génitale (endométrite/cervicite) qui sera délétère pour les performances de reproduction ultérieures. D'autre part, les causes d'avortement ne sont identifiées que dans environ 30% des cas.

La connaissance des modifications microscopiques pathologiques de l'endomètre pourrait ainsi contribuer au diagnostic étiologique (**Kenney et Doig, 1986**).

Chez la chienne, cette technique peut être utilisée dans l'identification des stades précoces d'hyperplasie kystique endométriale et d'endométrite. Leur diagnostic est intéressant car il permet d'identifier une cause d'infertilité et un traitement possible .

Chez la jument, l'histologie a tout son intérêt dans le diagnostic des juments dites « subfertiles » (repeat-breeder, mort embryonnaire précoce...), dans l'évaluation et la prédiction de la fertilité, dans le suivi de l'efficacité thérapeutique, lors d'une visite d'achat ou encore dans la détection des causes de baisse de fertilité indétectables avec d'autres techniques (**Kenney et Doig, 1986 ; Carleton, 1997**). D'ailleurs, les modifications dégénératives de l'endomètre (endométriose, angiopathie, atrophie endométriale), qui perturbent la fertilité des juments, ne peuvent être évaluées que par le biais d'un examen

Chapitre I : la biopsie utérine

histologique mené sur une biopsie endométriale (Overbeck et al, 2013).

De plus, d'après (Blanchard 2005), plus le diagnostic est réalisé précocement (dès l'apparition de troubles de la reproduction), moins le risque d'apparition de lésions irréversibles est élevé. Toutes les juments diagnostiquées non gravides en automne devraient ainsi faire l'objet d'un examen génital approfondi comprenant une biopsie endométriale. Néanmoins, cette méthode prend toute sa valeur et son intérêt lorsqu'elle est le résultat d'une collaboration étroite et suivie entre le clinicien spécialisé en pathologie équine et l'anatomopathologiste. En effet, il faut replacer les résultats de la biopsie dans un contexte clinique et épidémiologique : l'âge, le passé de la reproductrice, les tentatives thérapeutiques (Wyers et Rey, 1987). Cet examen étant bien intégré en reproduction équine, une bonne interprétation des lésions endométriales conduit à proposer les conduites thérapeutiques les plus adaptées à chaque individu.

2)- L'histologie physiologique de l'endomètre

a)- Modifications au cours du cycle œstral :

Cette partie sera illustrée avec une espèce non saisonnée (la vache) , afin d'appréhender l'histologie de l'endomètre en œstrus (figure 05).

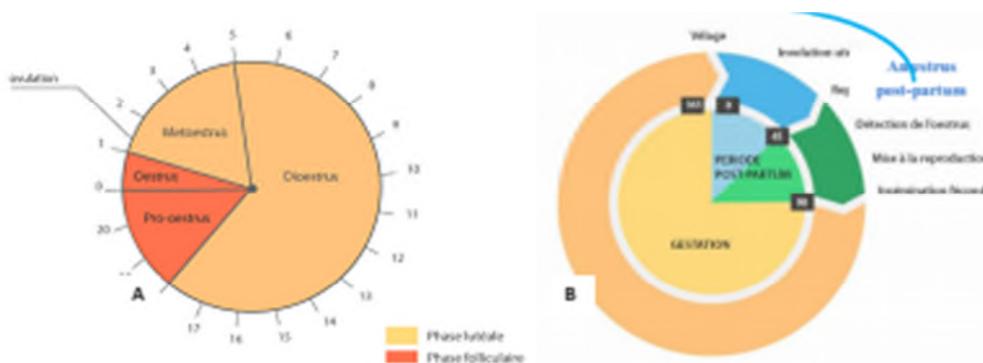


Figure (05) : Le cycle œstral de la vache (reprology.com)

A : Les différentes phases du cycle œstral

B : L'œstrus post-partum

Chapitre I : la biopsie utérine

L'utérus de vache est le siège de remaniements histologiques tout au long du cycle œstral : la progestérone prédomine en phase lutéale, et ce sont au contraire les œstrogènes en phase folliculaire. L'œstradiol stimule l'épithélialisation et la vascularisation de l'endomètre, améliore la contractilité utérine, amorce la réceptivité sexuelle et stimule l'immunité de l'utérus. La progestérone, quant à elle, favorise la différenciation des glandes endométriales et leur sécrétion, diminue la production de mucus cervical, inhibe la contractilité utérine et au contraire inhibe la fonction immunitaire protectrice du tractus génital (**Azawi, 2008**).

En termes histologiques, l'endomètre subit de fortes variations. Pour l'endomètre, on constate une prolifération de l'épithélium superficiel en début de phase progestative. Des élévations de la muqueuse délimitent des invaginations (cryptes endométriales) dans lesquelles les glandes débouchent en groupe. Le stroma, relativement mince au cours de l'œstrus, augmente en épaisseur en proœstrus en atteignant son maximum dans l'œstrus et surtout dans le métœstrus (**Barone, 1978**).

Les glandes endométriales subissent aussi des remaniements. Elles sont peu serrées et à peine sinueuses (davantage flexueuses aux abords du myomètre) pendant l'œstrus et le diœstrus.

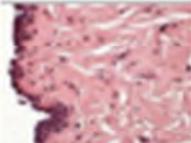
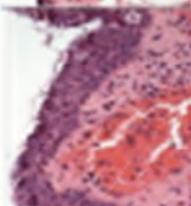
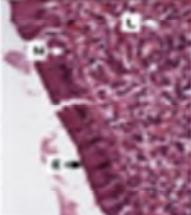
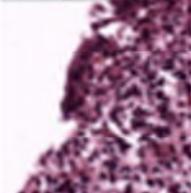
Au cours du proœstrus, elles s'allongent, se ramifient, deviennent flexueuses et s'élargissent. Leur épithélium s'élève en hauteur, leurs cellules prolifèrent et prennent un caractère sécrétoire manifeste. Cette évolution s'accroît fortement lors de l'œstrus et atteint son maximum lors du métœstrus. Elles redeviennent peu flexueuses, plus courtes et plus étroites, l'épithélium perd progressivement ses caractères sécrétoires et reprend un type colonnaire bas en début de diœstrus (**Barone, 1978**).

La vascularisation est aussi remaniée. Les vaisseaux sanguins et lymphatiques se multiplient fortement au moment de l'œstrus et du métœstrus. La congestion est si importante que certains capillaires se rompent, entraînant de petites hémorragies qui se mêlent aux sécrétions glandulaires. La couche profonde de l'endomètre devient œdémateuse et de multiples vaisseaux sanguins apparaissent dans le stratum compactum. C'est au début du diœstrus que la vascularisation commence à diminuer (**Barone, 1978**).

Chapitre I : la biopsie utérine

Quant aux vaisseaux lymphatiques, dilatés, ils forment des lacunes lymphatiques localisées ou diffuses. Lorsque ces lacunes grossissent et se réunissent, des kystes endométriaux se forment (Kenney, 1978). Histologiquement, ils devraient être différenciés des œdèmes (Kenney, 1978)

D'un point de vue cellulaire, les neutrophiles sont plus nombreux dans l'endomètre au cours de la phase folliculaire qu'en phase lutéale (Dhaliwal et al, 2001). Hors œstrus, on trouve peu de lymphocytes dans l'épithélium de la muqueuse utérine. La présence d'éosinophiles dans l'endomètre est certes plus fréquente chez les vaches non cyclées mais n'est pas systématique. L'infiltration lymphocytaire y est plus importante que chez les vaches cyclées (Chaffaux et al, 1987).

| Grade | Histopathologie | Caractéristiques histologiques |
|-------|---|--|
| 0 |  | Inerte ou quiescent Aucune inflammation |
| 1 |  | Inflammation légère : faible infiltration lymphocytaire (L) |
| 2 |  | Inflammation modérée : infiltration lymphocytaire importante |
| 3 |  | Inflammation sévère : migration de monocytes et de neutrophiles (N), œdème, congestion vasculaire et hémorragie. |

Tableau(01) : Gradation du degré d'inflammation dans l'endomètre chez la vache (Chapwanya et al, 2009)

N : neutrophiles, L : lymphocytes

Chapitre I : la biopsie utérine

| | Critère | Critères subjectifs | Critères quantitatifs |
|---|-------------------------|--|---|
| Biopsie | Liabilité | Illisible, bonne lisible, très bonne lisible | Nombre de zones où l'épithélium peut être mesuré |
| Epithélium | Taille | Columnaire, cuboïde, pavimenteux | Epithélium intact mesuré (x400) |
| | Cellules inflammatoires | Mononucléaires, polynucléaires | Nombre par champs d'observation (x400) |
| Stratum compactum | Cellules inflammatoires | Mononucléaires, polynucléaires | Nombre par champ d'observation (sous la membrane basale) (x65) |
| | Foyers lymphocytaires | | Nombre sur la biopsie (x100) |
| Stratum spongiosum | Foyers lymphocytaires | | Nombre sur la biopsie (x100) |
| Glandes | Densité | Aucune, faible, modérée, marquée | Nombre par champ d'observation (sous la membrane basale) (x100) |
| | Type Taille | Droites, flexueuses Dilatées ou pas | Diamètres intérieur et extérieur des glandes |
| | Fibrose | Présente/absente | Nombre de couches autour des glandes |
| Inflammation | | Aucune, faible, modérée, sévère | |
| Type cellulaire prédominant | | Mononucléaires/ polynucléaires | |
| Présence de muscle ou tissu vasculaire | | Présent/absent | |

Tableau (02) : Evaluation des biopsies endométriales chez la vache

| | Critères | Score |
|--------------------------------|--|-------|
| Epithélium luminal | - Absent | 0 |
| | - Normal | 1 |
| | - Infiltré | 2 |
| | - Partiellement ou totalement détruit | 3 |
| Morphologie glandulaire | - Normal | 1 |
| | - Glandes dilatées (diamètre de la lumière excédant 2 fois la hauteur des cellules épithéliales) | 2 |
| | - Glandes kystiques (très dilatées présentant un épithélium aplati, hypoplasique) | 3 |
| Fibrose glandulaire | - Absente | 0 |
| | - 1 à 2 couches concentriques de fibroblastes | 1 |
| | - 2 ou 3 couches concentriques de fibroblastes | 2 |
| | - Nombreuses couches de fibroblastes ou sclérose des sites glandulaires | 3 |
| Infiltration cellulaire | - Infiltration mononucléée | |
| | - Absente | 0 |
| | - Modérée | 1 |
| | - Forte | 2 |
| | - Infiltration polynucléée | |
| | - Absente | 0 |
| | - Modérée | 1 |
| | - Forte | 2 |
| Nodules lymphoïdes | - Présents | 1 |
| | - Absents | 0 |

Tableau (03) : Classification des lésions d'endométrites chez la vache

Chapitre I : la biopsie utérine

| Degré de l'endométrite | Infiltration cellulaire diffuse | Les nodules lymphocytaires |
|------------------------|--|----------------------------|
| Légère | Infiltration modérée du <i>stratum compactum</i> | 1 ou 2 |
| Modérée | Infiltration dense du <i>stratum compactum</i> et de la partie supérieure du <i>stratum spongiosum</i> | 3 ou 4 |
| Sévère | Infiltration dense du <i>stratum compactum</i> et <i>spongiosum</i> | > 5 |

Tableau (04) : Gradation des endométrites selon Hartigan et al (1972)

Chapitre I : la biopsie utérine

b)- Modifications associées à l'involution utérine chez la vache

b-1)- Modifications anatomiques

Elles se caractérisent essentiellement par une réduction de la taille de l'utérus, conséquence des effets conjugués des contractions utérines, de la réduction de la taille des cellules myométriales, de la vasoconstriction et la diminution du débit sanguin vers l'utérus, de l'élimination des lochies et de la résorption de l'œdème tissulaire.

Au lendemain du vêlage, la corne gestante se présente comme un sac long d'un mètre environ, d'un diamètre de 40 cm et pesant entre 8 et 10 kgs. Son diamètre se réduit de moitié en 5 jours, son poids en 7 jours et sa longueur en 15 jours (**Gier et Marion 1968**).

La régression plus rapide du poids par rapport aux dimensions s'expliquerait par la diminution de la circulation sanguine de l'utérus sous l'effet des contractions utérines particulièrement importantes au cours des 48 voire 72 premières heures après le vêlage. Entre le 4ème et le 9ème jour post-partum, la diminution de la taille de l'utérus est plutôt lente. Elle se poursuit plus rapidement ensuite sous l'effet de l'élimination des lochies. Cette régression est habituellement considérée comme terminée 25 à 40 jours environ après le vêlage. L'utérus pèse à ce moment 900 gr environ et le diamètre de la corne gestante est inférieur à 5 cm (**Fosgate et al. 1962, Morrow et al. 1966, Marion et al. 1968**).

Le délai moyen de 30 jours peut être pris en considération pour diagnostiquer un retard d'involution utérine sur base de la présence au delà de ce délai d'une ou de deux cornes de diamètre supérieur à 5 cm.

Les changements au niveau de la corne non-gravide sont généralement moins importants et son involution est plus rapide. L'involution du col utérin se produit plus lentement que celle des cornes utérines et ne sera habituellement terminée qu'entre le 40ème et le 50ème jour du post-partum. Un toucher vaginal permet de constater la fermeture du col en 24 à 48 heures. Après 2 à 3 jours, il devient difficile d'effectuer une exploration utérine par cette voie. Cette observation est à prendre en considération quand il s'agit de mettre en place un traitement intra-utérin tel que le drainage de la cavité utérine.

Chapitre I : la biopsie utérine

b-2)-modification

histologique :

Elles comportent un double aspect : élimination des tissus et des liquides d'une part (lochies), et processus de régénérescence tissulaire d'autre part. On se souviendra que la majorité des composants de l'utérus sont résorbés après le vêlage, les lochies ne constituant que la partie minoritaire. L'involution utérine et le retard d'involution utérine chez la vache

b-2-a)- Elimination tissulaire et des lochies :

Divers éléments participent à l'élimination des tissus et des liquides au cours de l'involution utérine : l'infiltration leucocytaire responsable de la réaction inflammatoire aiguë puis chronique, la vasoconstriction et les contractions utérines. Les deux premiers phénomènes entraînent une nécrose tissulaire et donc l'élimination des caroncules maternelles tandis que les contractions utérines favorisent l'élimination des lochies. Les lochies sont principalement éliminées dans les 48 heures suivant le vêlage (1,5 litre environ).

Cette élimination est réduite à 0,5 litre une semaine plus tard et cesse pratiquement à la fin de la deuxième semaine. Elles sont rarement observées après le 20ème jour post-partum et témoignent le cas échéant de la présence d'une infection utérine. Cette élimination des lochies contribue aussi à la décontamination de la cavité utérine. La plupart des primipares éliminent de faibles quantités de lochies (50 ml environ), la quantité restante étant résorbée par l'utérus.

Chez les multipares, la quantité est plus importante et comprise entre 800 et 2000 ml.

Entre le 2ème et le 4ème jour post-partum, les lochies se présentent sous la forme d'écoulements jaunes-bruns à rouges. Ils sont principalement constitués de liquides placentaires, de sang, de débris tissulaires, de bactéries et de liquides provenant d'une exsudation endométriale. Le sang provient des hémorragies capillaires aux endroits de nécrose des caroncules. Vers le 10ème à 14ème jour après le vêlage, les écoulements prennent une coloration plus rougeâtre conséquence de l'augmentation de sang résultant des hémorragies capillaires aux endroits de détachement cotylédonnaire. Par la suite, les écoulements vulvaires deviennent plus muqueux

Chapitre I : la biopsie utérine

2.2. Infiltration leucocytaire :

L'activité phagocytaire intra-caronculaire augmente avant la parturition. Deux à trois jours après la parturition, la majorité des cryptes maternelles est envahie par de nombreux leucocytes (neutrophiles, plasmocytes et lymphocytes) qui avec la vasoconstriction vont participer à la nécrose de la masse caronculaire. Ainsi, chez les vaches normales, le nombre de neutrophiles augmente au cours des 10 à 15 derniers jours de la gestation et diminue ensuite au cours des 7 premiers jours du post-partum. Leur activité phagocytaire augmente avant la parturition, diminue brusquement au moment du vêlage puis augmente au cours des 14 premiers jours suivant le vêlage (Cai et al. *Am.J.Vet.Res.*, 1994,55:934-943). Vers le 10ème 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.J.Vet.Res.*, 1968, 29,1-23).

La dissolution et l'élimination des masses caronculaires sont terminées vers le 12ème jour, laissant à nu la surface avec des vaisseaux sanguins s'ouvrant dans la lumière utérine. La régression des caroncules est parallèle à celle de l'utérus. Elles ont une longueur, largeur et épaisseur respectivement égale à 45, 36, 13 et 13, 11 et 4 mm au 7ème et 21ème jour suivant le vêlage. Les vaisseaux sanguins qui irriguaient les caroncules s'hyalinisent et disparaissent entre le 10ème et le 30ème jour après le vêlage. Entre le 14ème et le 21ème jour du post-partum, les leucocytes continuent à migrer dans la lumière utérine et participent ce faisant à la résorption phagocytaire de la surface endométriale (Dolezel et al. *Vet.Med.*, 1991, 36,257-264 ; Rasbech Nord

Vet.Med,1950,2,655-704).

2.3. Vasoconstriction :

Dès le premier jour du post-partum, une importante vasoconstriction est observée au niveau des petites et moyennes artères dans et à la base du caroncule, jouant ce faisant un rôle important dans le processus de nécrose des caroncules qui s'achève vers le 5ème jour du post-partum. Vers le 12ème voire 15ème jour du postpartum, les artérioles de la couche superficielle de l'endomètre sont éliminées par

Chapitre I : la biopsie utérine

hyalinisation.

Par contre, le lit vasculaire à la base de chaque caroncule se maintient pendant plusieurs semaines.

2.4. Contractions utérines :

Au cours des 48 voire 72 premières heures du post-partum, l'utérus présente des contractions intenses toutes les 3 à 4 minutes. Elles contribuent à donner à l'utérus un aspect plissé en tôle ondulée aisément identifiable par palpation manuelle. Ces contractions s'accompagnent d'une réduction de la longueur des cellules myométriales qui passent de 750 microns à 400 microns le premier jour à 200 microns le second jour. Les contractions contribuent à l'élimination des lochies présentes dans les deux cornes utérines d'autant que le col utérin demeure relâché pendant environ 36 heures. La redistribution du sang vers la mamelle favorise également une diminution du débit du sang au niveau de l'utérus. Entre le 2^{ème} et le 4^{ème} jour du post-partum, les contractions utérines deviennent moins intenses mais plus fréquentes. Entre le 4^{ème} et le 9^{ème} jour post-partum, les contractions utérines deviennent tout à fait irrégulières. Entre le 10^{ème} et le 15^{ème} jour, le tonus utérin s'accroît sous l'effet notamment de la réapparition d'une croissance folliculaire. Cette augmentation de tonicité favorise l'expulsion du reste des lochies par le col à nouveau partiellement dilaté.

III Corrélation entre les lésions histologiques et les paramètres de reproduction

3-a)-Chez la vache

Les auteurs sont de façon générale d'accord (sans pour autant être unanimes) sur le fait que les endométrites au sens large ont un effet délétère sur la fertilité des vaches . Une augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage, une réduction du taux de réussite en première IA , une augmentation du nombre d'inséminations par IA fécondante, du taux de réforme font parties de ces paramètres de reproduction altérés.

3-a-1)-Les lésions histologiques caractéristiques d'infertilité

Chez la vache, la gravité des modifications endométriales liées à l'inflammation est corrélée avec les performances de reproduction (**Doig, 1980**). Le temps qu'une vache reste infertile est corrélée à la sévérité et de la durée de l'inflammation D'après(**Hartigan et al 1972**), l'infiltration cellulaire de l'endomètre peut être reliée à l'infertilité des vaches à condition de fixer un seuil pathologique. En effet, des endométrites dites modérées ou discrètes ne sont pas forcément synonymes de stérilité (**Hartigan et al, 1972**), car elles peuvent être liées à la phase du cycle oestral (présence de neutrophiles) et à l'âge de la femelle.

Des portions restreintes d'endomètre infiltrées par les cellules ont peu d'effet sur la fertilité alors qu'une infiltration cellulaire diffuse fait diminuer les chances de fécondation (**De Bois et Manspeaker, 1986**). En effet, si des lésions modérées d'endométrite sont compatibles avec une gestation, par contre une importante densité en foyers inflammatoires réduit le taux de conception (**De Bois, 1961 ; cité par Dawson, 1963**).

(**Eduvie et al 1984**) ont montré que les biopsies utérines présentant des nodules lymphoïdes augmentent avec le nombre de jours post-partum. L'infiltration lymphocytaire de l'endomètre, l'atteinte de l'épithélium luminal, un degré de fibrose périglandulaire important sont significativement plus marquées chez les animaux dont le délai de guérison est ensuite long (>120 jours) (**Chaffaux et al, 1987**). Les signes chroniques d'inflammation, telles que

Chapitre I : la biopsie utérine

la dilatation des glandes endométriales, la fibrose périglandulaire font augmenter le nombre d'inséminations artificielles nécessaires pour obtenir une insémination fécondante (**Bois et Manspeaker, 1986**).

Quant à la fibrose péri-glandulaire, elle peut interférer avec la fonction de la glande jusqu'à l'atteinte du soutien glandulaire pour le conceptus en début de gestation, causant ainsi une mort embryonnaire précoce (**Bretzlaff, 1987 ; Azawi, 2008**). Elle signe une véritable dégénérescence du tissu endométrial, à l'origine d'infertilité (**Chaffaux et al, 1987**).

D'après (**Kübar et Jalakas 2002**), la dégénérescence kystique des glandes utérines doit être majeure pour affecter la reproduction ; réciproquement, l'élargissement kystique des glandes utérines ne signifie pas que la vache soit stérile. Il n'y aurait donc pas de relation entre la présence de glandes kystiques et les performances de reproduction (**Kübar et Jalakas, 2002**).

Il ne semble pas y avoir de corrélation entre la présence ou la gravité des lésions histologiques et l'isolement d'une ou plusieurs espèces bactériennes spécifiques (**Messier et al, 1984**). Des études précédentes (**Griffin et al, 1974 ; Luginbuhl et al, 1981 ; cités par Messier et al, 1984**) avaient montré que l'isolement de *T. pyogenes* n'était corrélé avec la présence de lésions graves de l'endomètre que lorsque d'autres espèces bactériennes étaient isolées simultanément. De même, aucune corrélation ne pouvait être établie entre le nombre de bactéries par gramme de tissu utérin et la gravité des lésions (**Messier et al, 1984**).

Au final, les critères d'intérêt pronostique pour la fertilité ultérieure chez la vache sont l'inflammation, la fibrose péri-glandulaire, et la dégénérescence kystique de nombreuses glandes.

3-a-2) Préviation des animaux infertiles en fonction de leur lésion histologique :

(**Gonzalez et al 1985**) avaient défini 4 catégories d'utérus (selon la réaction inflammatoire, la fibrose et l'aspect des glandes) : la catégorie 1 comprenait les endomètres normaux avec une gradation croissante jusqu'à la catégorie 4 correspondant aux endomètres présentant les lésions les plus graves. Trente-trois pourcents des vaches de la catégorie 1, 56,5% des vaches de la catégorie 2, 73,5%

Chapitre I : la biopsie utérine

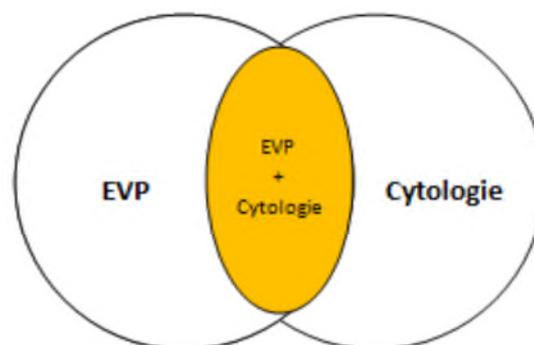
des vaches de la catégorie 3 et 91,3% de celles en catégorie 4 présentent des troubles de la reproduction (avortement, repeat-breeding, mortinatalité, intervalle vêlage-insémination artificielle fécondante augmenté).

Dans l'étude de (**Chaffaux et al 1987**), on se rend compte toutefois que tous les animaux avec des lésions sévères d'endométrites ne sont pas pour autant infertiles (8,7%). En bilan, même si 85% des animaux fertiles ne présentent ni lésions graves d'endométrite ni fibrose périglandulaire (**Chaffaux et al, 1987**), la gestation reste néanmoins possible en cas d'endométrite légère à modérée. Et réciproquement, une étude de (**Messier et al 1984**) a montré que dans toutes les classes histologiques d'endomètre il existe toujours quelques animaux infertiles. Mais une endométrite initialement peu grave peut devenir persistante et altérer la fertilité (**LeBlanc et al, 2002**), autrement dit c'est la chronicité d'une lésion mineure qui peut être à l'origine d'infertilité.

4)- L'examen histologique dans le diagnostic d'endométrite chez la vache

Le diagnostic des endométrites dans les troupeaux a été gêné par un manque de définition de la maladie (Gilbert et al, 2005 ; Sheldon et al, 2006). Récemment, les endométrites ont été subdivisées en formes clinique et subclinique (Sheldon et al, 2009). Les endométrites cliniques sont associées à un écoulement vaginal purulent au-delà de 21 jours postpartum alors que les endométrites subcliniques sont définies par une inflammation de l'endomètre sans signes cliniques apparents. Elles se caractérisent à l'examen cytologique, par un taux de neutrophiles entre 5,5% et 10% dans des échantillons obtenus par lavage utérin ou avec une cytobrosse autour de 5 semaines post-partum (sans signe clinique). Ces vaches ne présentent pas d'écoulement vaginal mais l'inflammation utérine est associée à une altération des performances de reproduction (Sheldon et al, 2009). Néanmoins, en 2010, Dubuc et al ont remis en cause cette distinction des endométrites en endomérite clinique et cytologique.

En effet, ils ont mis en évidence que sur un même lot de vaches la cytologie (au seuil de 6% de neutrophiles) a détecté 13,5% d'endométrite, l'examen clinique (écoulement vaginal purulent ou muco-purulent) en a détecté 9,4% et les deux examens simultanés 5,8%. Ceci suggère qu'il y a trois types d'endométrites différents : celles avec un écoulement vaginal purulent (EVP), celles avec une cytologie utérine montrant plus de 6% de neutrophiles et celles présentant à la fois un écoulement vaginal purulent et une cytologie utérine positive (figure 06).



EVP : Ecoulement vaginal purulent

Figure 06 : Les différentes formes d'endométrites selon (Dubuc et al 2010)

Chapitre I : la biopsie utérine

L'examen histologique de l'endomètre fournit de nombreux détails sur l'inflammation endométriale, des détails précis sur les lésions, et permet une évaluation des différents éléments tissulaires. Cet examen a une sensibilité de 44% et une spécificité de 92 % pour diagnostiquer les endométrites subcliniques en utilisant l'examen cytologique comme référence (**Meira et al, 2012**). Il s'agit donc d'une méthode diagnostique très spécifique mais peu sensible.

Déjà en (**1956, Skjerven**) suggérait, que les « possibilités d'une biopsie endométriale » devraient être envisagées afin d'améliorer le diagnostic de l'infertilité bovine

(Bonnet et al, 1991a)

. D'après certains auteurs, la biopsie utérine est effectivement une solution clé pour identifier la nature du problème d'infertilité (**Bretzlaff, 1987**), dont les endométrites (**Gilbert et al, 2005**).

Néanmoins, contrairement au milieu équin, bien qu'il existe à l'heure actuelle une échelle de gradation des lésions histologiques utérines chez la vache (**Chapwanya et al, 2009**), il manque des études évaluant la relation entre le statut de la biopsie et la fertilité de la vache biopsiée (**Madoz et al, 2014**). Seul un travail mené par (**Meira et al 2012**) a évalué l'emploi de la biopsie utérine comme outil diagnostique des endométrites subcliniques.

En pratique, lorsque la clinique, la palpation transrectale et l'examen vaginal convergent de façon évidente vers une endométrite, la biopsie utérine n'est pas nécessaire (**Bois et Manspeaker, 1986**). Bien qu'elle ne soit pas justifiée dans la pratique quotidienne, elle peut être extrêmement utile lors de repeat-breeding (vaches infertiles à chaleurs normales). De plus, chez les vaches de haute valeur, le recours à la biopsie utérine permet une évaluation complète du tractus génital (**DeBois et Manspeaker, 1986**).

Quant aux endométrites subcliniques, les examens diagnostiques de routine comme l'examen au vaginoscope ne permettent pas de les identifier. Or, elles altèrent, insidieusement, les performances de reproduction. On peut donc considérer des vaches comme saines avec les examens de routine, alors que simplement elles ne manifestent pas de signes cliniques (endométrite subclinique).

D'après (**Sheldon et al 2009**), 37-74% des animaux sont touchés par cette affection.

Chapitre I : la biopsie utérine

Elles représenteraient plus de 40% des vaches déclarées saines (**Deguillaume, 2010**). Certes, la cytologie a prouvé son efficacité pour détecter ce type d'endométrite, mais la biopsie utérine a peut-être son rôle à jouer aussi si on parvient à montrer qu'elle est plus prédictive des performances de reproduction ultérieures que ne l'est la cytologie.

Le recours à la biopsie utérine chez la vache a sans doute été limité par le questionnement quant à son innocuité. Certaines études affirment que la biopsie utérine perturbe la fertilité (**Zaayer et Van der Horst, 1974 ; Miller et al, 1980**) et/ou induit des affections utérines.

(**Zaayer et Van der Horst 1974**) montraient que deux biopsies séparées dans le temps et réalisées chacune sur une corne différente étaient délétères pour une vache. En effet, en se basant sur les observations des éleveurs (chez qui ces chercheurs avaient pratiqué les biopsies utérines), un retard et une diminution d'expression des chaleurs étaient constatés.

Sur huit vaches dites « fertiles », quatre n'ont pas exprimé de chaleurs et trois sont revenues en chaleur plus tardivement.

Dans l'étude de (**Miller et al 1980**), les vaches ayant été biopsiées entre 21 et 35 jours post-partum ont un taux de réussite à la première insemination légèrement réduit, sans pour autant que cette démonstration soit très scientifique. En effet, sur les 207 vaches biopsiées sur les 2691 vaches de l'étude, le taux de réussite en première insémination est d'environ 30%, comparé à celui de la population totale qui est de 43%.

Cependant, les vaches biopsiées provenaient du groupe de vaches ayant une endométrite modérée (cornes utérines de 3-4 cm, 0,5 à 1 cm de différence de diamètre entre les deux cornes, parfois écoulement utérin léger à modéré), alors que la population totale était constituée à la fois de vaches avec des utérus normaux (1140 vaches), avec des endométrites modérées (550 vaches) et des endométrites sévères (111 vaches).

D'autres auteurs comme (**DeBois et Manspeaker 1986**), (**Sheldon et al 2006**), (**Chapwanya et al 2010**) défendent eux l'innocuité de cette technique. Ces derniers

Chapitre I : la biopsie utérine

ont étudié les conséquences des biopsies utérines réalisées sur 13 vaches à 15, 30, 60 jours post-partum.

Pour ce faire, un examen clinique (examen externe, température, couleur des muqueuses, fréquence respiratoire, fréquence cardiaque) a été réalisé sur chaque vache à 1, 6, 24 et 48 heures post-biopsie en se concentrant particulièrement sur les écoulements vulvaires anormaux et sur les signes d'inconfort. Les vaches étaient par la suite synchronisées et inséminées. Un diagnostic de gestation était mis en place 27 jours après l'insémination.

Le taux de gestation n'était pas perturbé, et aucun effet délétère sur la santé, la cyclicité ou la fertilité n'ont été détectés. Par ailleurs, la cicatrisation est rapide, les hémorragies et autres lésions se résorbent facilement. En 2014, l'équipe de Binelli (**Pugliesi et al, 2014**) révèle dans leur étude, dans laquelle été évalué l'impact de la biopsie utérine la semaine après l'insémination artificielle sur le taux de gestation et le maintien d'une gestation, qu'aucun marqueur d'infection ou d'affection utérine n'était observé postérieurement à la biopsie.

Bien que la biopsie endométriale ait été sans doute l'outil diagnostic de certitude chez les juments, son coût financier et en temps de travail limitent son utilisation chez la vache (**Gilbert et al, 2005**). La réalisation du cathétérisme cervical est également beaucoup plus complexe chez la vache que chez la jument, en particulier chez les primipares. Il est conseillé de pratiquer la biopsie pendant l'oestrus, de ne pas hésiter à faire un échantillon de taille suffisante soit de 4x8 mm (**De Bois et Manspeaker, 1986 ; Chapwanya et al 2010**) et autant qu'il soit possible de la reconnaître, d'effectuer la biopsie dans la corne qui n'hébergeait pas le veau lors de la gestation précédente car les biopsies y seraient plus lisibles.

La préparation et la lecture microscopique des échantillons ne permettent pas d'obtenir une réponse « au chevet » de la femelle, d'autant plus qu'il faut des compétences d'un anatomopathologiste pour l'interprétation des lésions histologiques. Des méthodes moins invasives pour évaluer l'inflammation endométriale incluent la cytologie avec recueil de l'échantillon par cytobrosse ou par lavage utérin, considérée comme la technique de référence et est devenue le standard auquel les autres techniques sont comparées (**Kasimanickam et al, 2004**);

Chapitre I : la biopsie utérine

Deguillaume et Chastant, 2009) ; (Sheldon et al, 2009) ;(Deguillaume et Chastant, 2012).

Au-delà du diagnostic, l'analyse des biopsies par PCR ou RT-PCR offre un potentiel sans précédent pour comprendre les mécanismes moléculaires régulant la réponse immunitaire du post-partum, les profils cellulaires et moléculaires en réponse aux modifications tissulaires et/ou aux affections post-partum. La biopsie pourrait donc faciliter la découverte de nouveaux marqueurs ou de cibles thérapeutiques nécessaires pour soigner des maladies utérines qui contribuent à la réduction de la fertilité (**Chapwanya et al, 2010**).

De même, afin de comprendre les mécanismes génétiques et physiologiques de l'implantation embryonnaire et donc de la réceptivité de l'endomètre utérin à une gestation,(**Pugliesi et al 2014**) ont montré que la biopsie utérine pouvait être un outil intéressant sans nuire à la fertilité bovine. En effet, elle est compatible avec le maintien de la gestation mais elle réduit néanmoins les taux de gestation de 35%

Plus récemment, des études en médecine humaine ont mis en évidence l'effet bénéfique d'une lésion induite par une biopsie sur l'endomètre avant la stimulation ovarienne au cours du cycle ovarien, sur la gestation. En effet, chez les femmes connaissant des échecs d'implantation embryonnaire récidivants, elles ont 71% de chance d'être enceintes après une lésion endométriale causée par une biopsie (**Potdar et al, 2012**). D'un point de vue mécanisme physiologique, la réceptivité endométriale est une des clés régulant l'implantation du blastocyste dans l'endomètre et il a été montré qu'une atteinte de l'endomètre modifie l'expression de gènes améliorant ainsi la sécrétion de facteurs de croissance et donc une meilleure implantation de l'embryon (**Kalma et al, 2009**).

CHAPITRE II

Cytologie endometriale

Chapitre II : Cytologie endometriale

L'usage de la cytologie endométriale fournit au médecin vétérinaire un procédé intéressant afin de caractériser et quantifier la réaction inflammatoire à l'intérieur de l'utérus. , le prélèvement vaginal est sans intérêt en médecine vétérinaire car la mise en évidence de cellules inflammatoires à cet endroit ne permet pas au praticien de distinguer une vaginite d'une endométrite.

Chez la vache et chez la chienne, il commence à être utilisé pour la détection des endométrites sub-cliniques. La cytologie cervicale, pourtant beaucoup plus facile à mettre en œuvre chez la vache et chez la chienne, demande quant à elle encore à être validée.

(Selon COUTO et HUGHES 1984), cet examen n'a aucun intérêt chez la jument car, outre que le prélèvement utérin ne pose pas plus de difficultés que le prélèvement cervical, cervicite et endométrite sont deux entités distinctes, la cervicite n'étant qu'une conséquence d'une endométrite déjà installée.

1)-PRINCIPE

La cytologie endométriale demeure un indicateur de l'inflammation plus sensible que la biopsie endométriale. Les neutrophiles constituent la première ligne de défense contre ces agents pathogènes. La population de polymorphonucléaires (PMN) au niveau de l'endomètre utérin augmente donc lors de la présence d'infection. La cytologie endométriale nous permet de quantifier cette réaction.

Du point de vue diagnostique, l'infection utérine est présente lorsqu'il y a une contamination de l'utérus par un agent bactérien pathogène. L'inflammation endométriale est la réponse immunitaire à une infection utérine. L'infection utérine est identifiée lors de bactériologie aérobiques et anaérobiques du milieu utérin, tandis que l'inflammation endométriale est actuellement diagnostiquée à l'aide de la cytologie endométriale. La combinaison de l'examen cytologique avec un examen bactériologique du milieu utérin aide à mieux préciser la condition de l'environnement utérin.

Chapitre II : Cytologie endometriale

Chez l'espèce équine, la combinaison de ces deux examens est courante afin d'identifier plus précisément les cas d'endométrites. Le prélèvement des échantillons, la réalisation des lames cytologiques et l'interprétation des résultats sont les trois étapes importantes. Un échantillon représentatif du milieu utérin doit être récolté

2)-LE MATÉRIEL

a)- Pour la préparation de l'animal

La région périnéale est savonnée avec de la povidone iodée sous forme savon, ou bien la vulve simplement nettoyée à l'eau chaude puis séchée avec du papier avant toute manipulation, le rectum est vidangé et la queue protégée.

b)-Pour la récolte des cellules

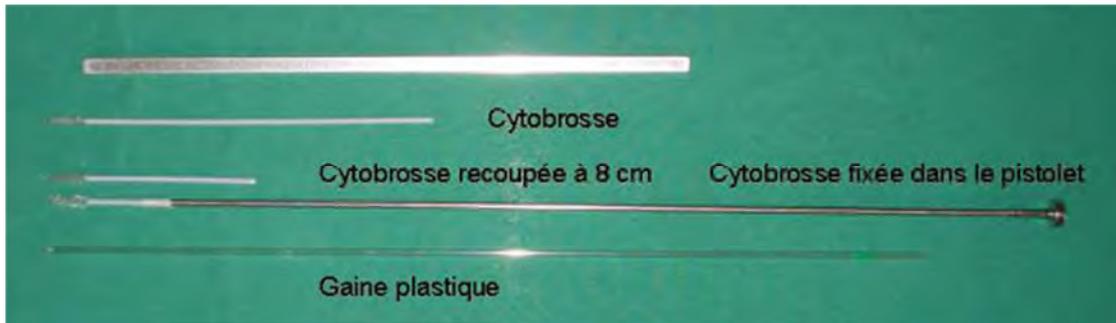
. Les méthodes connues pour le prélèvement sont soit la cytobrosse ou le lavage utérin.

b-1)-La méthode de prélèvement par cytobrosse

se décrit ainsi : la cytobrosse reliée à l'extrémité d'une tige d'acier inoxydable (65 cm de longueur, 4 mm de diamètre externe) est introduite à l'intérieur d'une autre tige en acier inoxydable protectrice (50 cm de longueur, 6 mm de diamètre externe). Ces dernières sont protégées par une chemise sanitaire. Une fois lubrifié, le matériel est engagé dans le vagin préalablement nettoyé.

La manipulation des instruments à l'intérieur du col est effectuée par méthode transrectale. À l'entrée du col utérin, la chemise sanitaire est perforée et la cytobrosse protégée de la tige d'acier inoxydable sont avancées dans le col utérin, par manipulation transrectale, pour se rendre au corps utérin. Une fois dans l'utérus, la cytobrosse est avancée et une rotation dans le sens horaire, 1 quart de tour est effectué afin de prélever du matériel cellulaire provenant de l'endomètre adjacent . Une fois le prélèvement endométrial réalisé, la tige protectrice est laissée en place, et la cytobrosse est retirée et appliquée sur une lame.

Chapitre II : Cytologie endometriale



Figure(07) Matériel d'utilisation de la cytobrosse (Deguillaume, 2007)



Figure (08) Cytobrosse et système de fixation au pistolet d'insémination (Deguillaume, 2007)

Un montage doit être réalisé chez la vache pour adapter la cytobrosse à la taille de son appareil génital (Figure 09) : le manche de la cytobrosse doit être coupé à une longueur adaptée (environ 3 cm) pour être ensuite inséré dans un pistolet d'insémination de 65 cm de long et de 4 mm de diamètre. Le tout est ensuite recouvert d'une gaine en acier réutilisable, ou d'une gaine en plastique à usage unique, longue de 50 cm et d'un diamètre de 5 mm (KASIMANICKAM et al., 2005 ; DEGUILLAUME, 2007).

Chapitre II : Cytologie endometriale

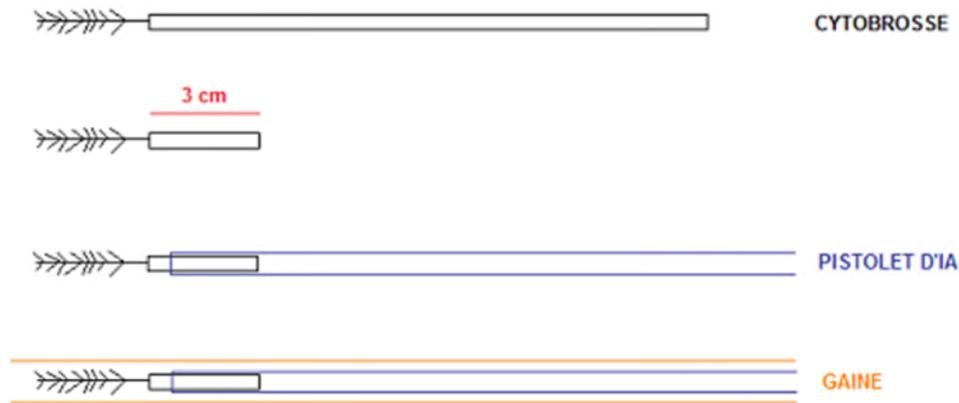


Figure (09) Montage d'adaptation de la cytobrosse chez la vache

b-2)-La méthode par lavage utérin

peu varier d'un praticien à l'autre (matériel utilisé, solution de lavage, temps de lavage) . Cette méthode ressemble à celle de la récolte d'embryons. La plupart du temps un cathéter utérin stérile est utilisé pour entrer dans l'utérus. Toutefois l'usage de paillette à infusion est envisageable. L'usage de 20 ml de saline stérile (0.9%) est commun.

Chez la vache, il est particulièrement recommandé de masser l'utérus et de le ramener vers soi pour récupérer un maximum de liquide (KASIMANICKAM et al., 2005). L'échantillon prélevé dans la seringue d'infusion est ensuite déplacé dans un tube stérile pour analyses ultérieures.

La réalisation des lames de cytologie est présentée dans les (Figures 11). Si la méthode de lavage utérin est utilisée, l'échantillon de liquide utérin doit être, au départ, centrifugé pour augmenter la population cellulaire sur la lame.

chez la jument en raison de son coût : il s'agit d'un cathéter à l'extrémité duquel se trouve un ballonnet préalablement dégonflé, le tout recouvert d'une gaine fermée par un capuchon. Le dispositif est introduit dans une corne, et le capuchon de la gaine décroché afin de pouvoir sortir le cathéter. Le ballonnet est gonflé dans la lumière utérine de façon à circonscrire un volume utérin situé à l'extrémité de la corne.

Chapitre II : Cytologie endometriale

Ainsi, le liquide injecté par le cathéter ne peut pas fuir vers d'autres zones de l'utérus. Il est ensuite réaspiré par le cathéter (**BROOK, 1993**).

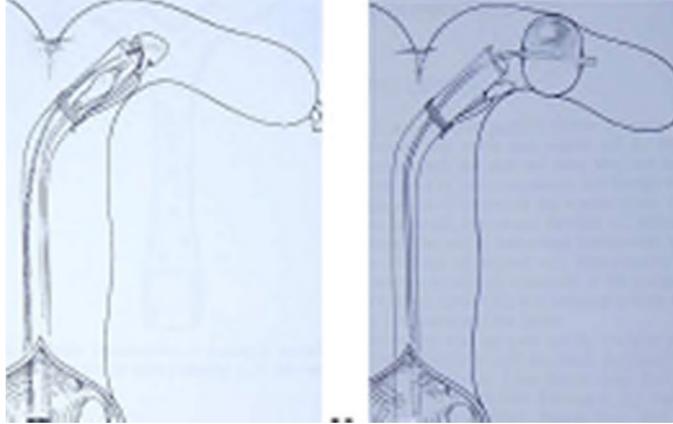
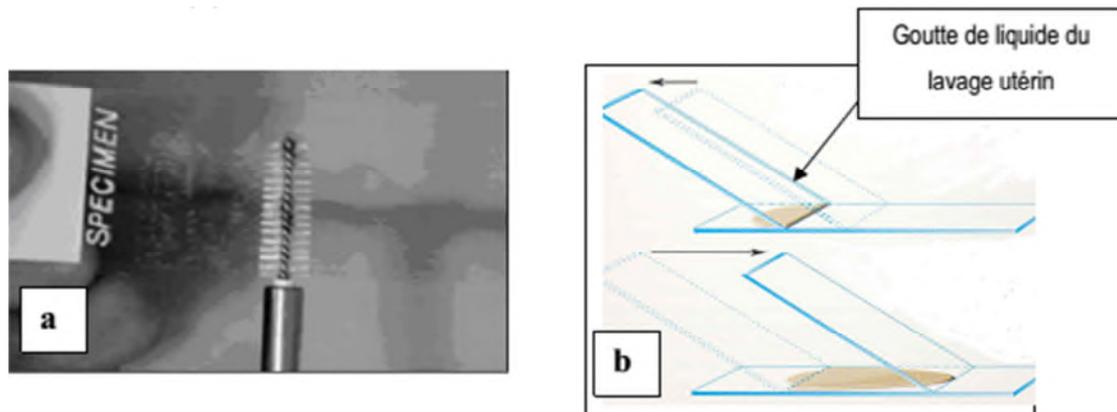


Figure (10) :Utilisation d'une sonde à ballonnet pour le lavage utérin chez la jument

Chez la chienne, la conformation du vagin et du col rendent difficiles la réalisation d'un prélèvement cytologique utérin. La cathétérisation du col doit être guidée par endoscopie : le cathéter est glissé dans le canal de l'endoscope jusqu'à l'utérus. L'endoscope est laissé en place jusqu'à la fin du lavage. Deux lavages utérins sont réalisés successivement, par l'injection et l'aspiration de 1 à 5 mL d'une solution isotonique de NaCl stérile (**WATTS et al., 1998**).

Chapitre II : Cytologie endometriale



Figures (11) Préparation des lames cytologiques

- a) Illustration de l'étalement de l'échantillon sur la lame de cytologie à l'aide de l'extrémité de la cytobrosse
- b) . b) Démonstration du mouvement entre les deux lames de cytologie afin d'étaler la gouttelette de l'échantillon de liquide provenant d'un lavage utérin.

Quelle que soit la méthode de prélèvement des cellules, les frottis obtenus seront colorés au Giemsa. 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.

c)-Comparaison des deux techniques

Le lavage utérin présente comme principal inconvénient, notamment chez la vache, le risque de recueillir trop peu de liquide, voire pas du tout. Même si une faible quantité (2 Ml) selon (**GILBERT et al., 2004**) est nécessaire pour l'examen cytologique, le lavage utérin ne permet pas toujours de l'obtenir. En effet, dans 17% des tentatives de prélèvement par cette technique chez la vache, aucun liquide n'a pu être récupéré après injection (**KASIMANICKAM et al., 2005**).

Chapitre II : Cytologie endometriale

La quantité de liquide recueillie est corrélée négativement avec le diamètre de l'utérus.

De plus, le taux de neutrophiles visibles sur la lame est inférieur à celui obtenu si le prélèvement est réalisé avec une cytobrosse

De plus, le lavage ne garantit pas d'obtenir à chaque nouvel animal prélevé, pour une même concentration cellulaire réelle, la même concentration cellulaire dans le liquide de lavage (**WATTS et al., 1998**) : on peut très bien imaginer que sur certains son récupère du liquide proche de celui qui a été injecté, peu cellulaire, alors que sur d'autres, au cours de la manipulation, davantage de cellules se mêlent au liquide.

Cependant, selon (**BETSCH 1998**), chez la Jument, le lavage utérin permet toujours d'obtenir une bonne cellularité.

Il semblerait donc que le lavage utérin soit moins apte à rendre compte de la concentration et de la composition cellulaire de la lumière utérine que le prélèvement par écouvillon.

De plus, selon (**BARLUND et al. 2008**), chez la vache, la répétabilité de la cytologie par écouvillon (cytobrosse en l'occurrence) est meilleure que celle de la cytologie par lavage : en effet, la concordance entre plusieurs cliniciens utilisant ces deux techniques est meilleure pour la cytologie par écouvillon. Les sensibilités et spécificités obtenues pour ces deux techniques au regard du taux de gestation sont similaires, et elles sont bien corrélées : le choix d'utiliser la cytobrosse plutôt que le lavage repose donc uniquement sur la répétabilité de la technique. Néanmoins, l'apparence moins nette des éléments cellulaires sur les lames issues de lavage, qui peut expliquer une moins bonne répétabilité de la technique, est potentiellement imputable dans cette étude à une centrifugation trop longue

Le lavage utérin permet cependant d'évaluer une plus grande surface utérine qu'avec un écouvillon (cytobrosse ou coton-tige), où seule une zone localisée de la muqueuse est concernée. Toutefois, il semblerait que chez la jument, la majorité des atteintes utérines soient généralisées (**BETSCH, 1998**).

Chapitre II : Cytologie endometriale

De plus, le prélèvement de liquide utérin apporte une information visuelle prédictive du résultat de l'examen cytologique. En effet, chez la jument, un liquide récupéré par lavage floconneux ou muqueux est associé à une cytologie contenant plus de 2 neutrophiles par champ (critère d'inflammation modérée ou sévère selon les auteurs), tandis qu'un liquide parfaitement clair est associé à une cytologie négative (**LEBLANC et al., 2007**).

Le prélèvement par écouvillon, quant à lui, provoque une déformation des cellules par déshydratation et écrasement (**ROSZEL et FREEMAN, 1988**). Cet artefact n'est cependant pas gênant si l'objectif est simplement la détection de neutrophiles, et non l'observation précise des cellules (**BROOK, 1993**). Il est possible de limiter la déshydratation des cellules prélevées en humidifiant l'écouvillon préalablement, ou en le roulant sur une lame humidifiée après avoir prélevé (**BROOK, 1993 ; BETSCH, 1998**).

Quant à l'écrasement des cellules, il peut être limité en n'appuyant pas trop sur l'écouvillon lors de la réalisation du frottis.

Enfin, le lavage utérin consomme plus de temps que l'écouvillonnage, notamment parce qu'une centrifugation est nécessaire avant l'étalement (**BROOK, 1993**). Il peut de plus créer une irritation (**BROOK, 1993**) se manifestant par la présence de davantage d'érythrocytes que lors d'une cytologie par écouvillonnage (**KASIMANICKAM et al., 2005**). Il ne semble pas y avoir d'explication dans la littérature à cette irritation produite par le lavage. Ce dernier comporte de plus le risque d'une contamination utérine car le cathéter d'insémination utilisé passe par le vagin sans être protégé avant d'être introduit dans l'utérus. Un échantillon peu cellulaire, c'est-à-dire qui contient peu de cellules, peut contenir une faible quantité de cellules inflammatoires et ainsi mal représenter l'environnement utérin. Les principaux éléments à regarder sur la lame sont les cellules épithéliales (Figure 12), neutrophiles (Figure 12) lymphocytes, macrophages, la présence de bactéries et des globules rouges. Parfois, on peut aussi retrouver des cellules vaginales (Figure 12). Ceci représente un indice de

Chapitre II : Cytologie endométriale

contamination cellulaire lors du prélèvement. Goutte de liquide du lavage utérin a b 19 (Figure 12) : Exemple de cellules (endométrales; neutrophiles; vaginales) retrouvées lors de cytologies endométriales provenant d'un lavage utérin chez la vache laitière. Reproduction personnelle

cellule endométriales

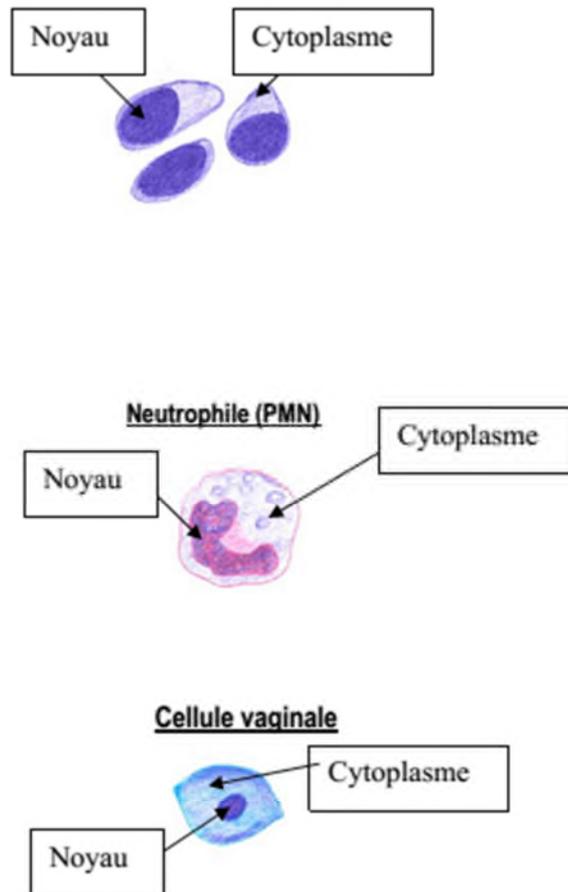


Figure (12) exemple de cellules

Chapitre II : Cytologie endometriale

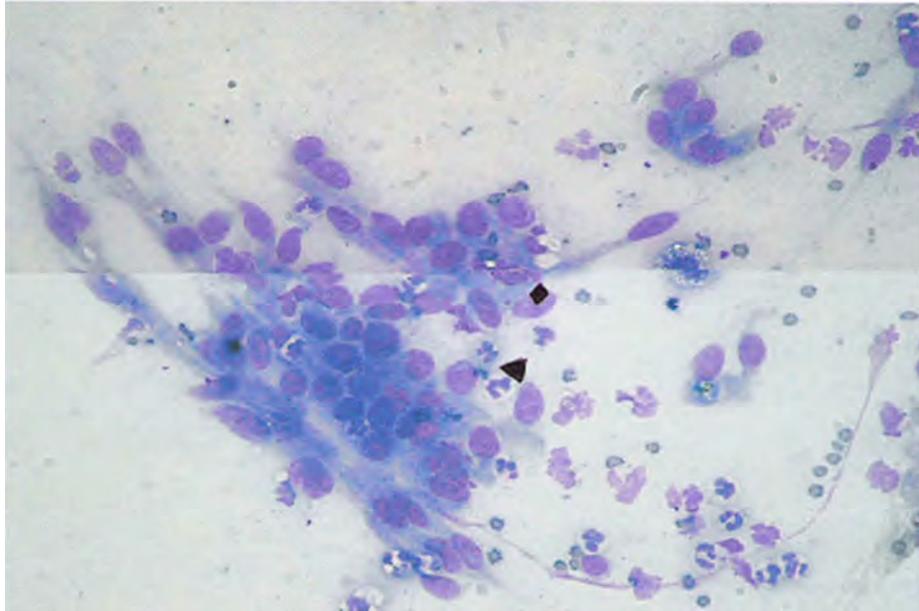


Figure (13) Examen cytologique d'un frottis utérin obtenu par cytobrosse.

Frottis utérin avec inflammation, avec présence de polynucléaires neutrophiles (◄) autour des cellules épithéliales (◆) (Deguillaume, 2007) .

La quantification du degré d'inflammation endométriale est identifiée selon un ratio : le compte de neutrophiles (polymorphonucléaires: PMN) versus le compte de cellules totales (incluant majoritairement les cellules épithéliales) . La présence de lymphocytes, macrophages et/ou plasmocytes indique un problème chronique. Une fois le décompte des cellules terminé, la qualité cellulaire doit être interprétée. Des changements dégénératifs (modification de la membrane cellulaire, hyper-segmentation du noyau, formation de vacuole, inclusion de gouttelette, etc.) peuvent parfois être présents et limiter la capacité d'interprétation.

L'endométrite est défini comme une inflammation limitée de l'endomètre présent 21 jours après la parturition et sans signe clinique systémique chez l'animal affecté. Cette dernière est divisée en deux catégories soit l'endométrite clinique et sous-clinique. L'endométrite clinique est diagnostiquée lorsque des Noyau Cytoplasme Cytoplasme Noyau Cytoplasme Noyau 20 écoulements purulents ou mucopurulents sont présents après 21 et 26 jours post-partum respectivement. L'endométrite sous clinique est diagnostiquée à l'aide de la cytologie endométriale soit (> 18 %

Chapitre II : Cytologie endométriale

neutrophiles) entre 20 et 33 JEL et (>10 % neutrophiles) entre 34-47 JEL. (Selon Gilbert), entre 40 et 60 jours post-partum, la présence de neutrophiles dans l'utérus est considérée comme une endométrite sous clinique et augmente le nombre de jours ouverts de 39 jours chez les vaches positives par rapport aux négatives . Plus précisément, une étude démontre que la présence d'une cytologie positive (> 18 % neutrophiles) entre 20 et 33 JEL et (>10 % neutrophiles) entre 34-47 JEL est associée significativement à des performances reproductives réduites de 41% (P = 0.001) et 44 % (P = 0.0004) respectivement, comparées aux vaches avec cytologie négative .

Les limites diagnostiques de la cytologie endométriale concernent la méthode de récolte, de préparation et d'interprétation des lames. Concernant la méthode de récolte, la technique de cytobrosse est plus facile, rapide, et possiblement plus représentative de l'inflammation réelle que le lavage utérin . La présence de débris dans les spécimens cytologiques, de l'effet de dilution et de la centrifugation de l'échantillon liquide sont des limites de la technique lors de lavages utérins. Le prélèvement par cytobrosse évalue uniquement l'endomètre situé dans le corps utérin. Le lavage utérin peut donner une meilleure image de l'utérus dans son ensemble. Le type de micro-organismes retrouvés dans l'utérus et la durée de l'infection expliquent parfois la mauvaise association entre l'inflammation endométriale et l'interprétation d'inflammation lors de cytologie . La conséquence principale de ces limites diagnostiques est une sous-estimation des cas d'inflammation réelle . Ainsi, la réalisation de tests complémentaires autres que la cytologie endométriale peut aider à identifier l'endométrite chez la vache laitière. Entre autres, l'utilisation de la cytologie combinée avec l'examen échographique (identification de liquide intra-utérin) est utile dans le diagnostic d'endométrite sous clinique. Un résultat positif obtenu lors des deux tests (cytologie endométriale positive et présence de liquide in utero), entre 20 et 47 jours post-partum, est associé avec une diminution des chances de gestation versus l'identification d'un seul test positif . L'identification d'une cytologie positive (> 18 % neutrophiles) entre 20 et 33 JEL et (>10 % neutrophiles) entre 34-47 JEL, plus l'identification de liquide intra-utérin entre 20 et 47 JEL diminuent les chances de gestation de 60%

Chapitre II : Cytologie endometriale

comparativement aux vaches sans cytologie positive et sans liquide intra-utérin ($P < 0.01$)

3)- Aspect d'une cytologie normale

a) Variations de la cytologie en fonction de la partie du tractus génital prélevée

a-1)- Variations qualitatives

Les cellules épithéliales utérines sont cylindriques, généralement non ciliées.

En cas de prélèvement cervical, les cellules épithéliales recueillies sont squameuses si elles proviennent de l'orifice externe et de la partie caudale du col, cylindriques si elles proviennent du reste du col et de l'orifice interne (COUTO et HUGHES, 1984).

a-2)- Variations quantitatives

chez la vache, les pourcentages de granulocytes neutrophiles dans le mucus cervical et dans le liquide utérin ne sont pas significativement différents (AHMADI et al., 2004 cités par AHMADI et al., 2006).

b)- Variation de la cytologie utérine au cours du cycle œstral

b-1)- Variations qualitatives

L'influence de la phase du cycle œstral sur l'immunité génitale de la vache a été largement étudiée (Roth et al., 1983 ; Sheldon et al., 2006 ; Lewis., 2003 ; Subandrio et al., 2000 , 1997,1992). La muqueuse du tractus génital est dotée d'un système de défense non spécifique et d'un système immunitaire spécifique humoral et cellulaire qui lui permettent de lutter contre les infections. Mais l'immunité génitale subit l'influence de l'équilibre endocrinien de l'organisme. Les hormones sexuelles influencent le système de défense de l'utérus, modifiant

la réponse aux agents agresseurs et l'intensité des phénomènes inflammatoires de la muqueuse.

De nombreuses études montrent que l'utérus est résistant aux infections durant la phase folliculaire, lorsque la progestéronémie est basale, alors qu'il est sensible à l'infection lorsque la progestéronémie augmente, en phase lutéale. Les vaches recevant une infusion intra utérine d'Arcanobacterium pyogenes et d'Escherichia coli durant la phase lutéale (progestéronémie

Chapitre II : Cytologie endometriale

élevée) développent une infection utérine tandis que les vaches recevant la même infusion en phase folliculaire (progestéronémie basse) ne développent pas d'infection (Lewis., 2003). Il en est de même chez la brebis avec 100% d'infection en phase lutéale et 0% d'infection en phase folliculaire (Seals et al., 2003).

Malgré le concept général de plus grande résistance à l'infection en phase folliculaire, différentes études apportent des résultats contradictoires (Hawk et al., 1960 ; Matsuda et al., 1983). Celles qui mettent en évidence une augmentation de la migration leucocytaire lors de concentration élevée en progestérone (Lander et al., 1990 ; Subandrio et al., 1992) expliquent la plus grande susceptibilité de l'utérus aux infections en phase lutéale par une diminution de l'activité phagocytaire des neutrophiles (Subandrio et al., 1997).

Selon ces auteurs, le recrutement des neutrophiles dans la lumière cervicale résulte d'une chute de progestéronémie et l'augmentation de l'œstradiolémie. L'influence du rapport E2/P4 reste à confirmer. Plusieurs facteurs peuvent influencer la fonction de reproduction, tels que l'état corporel et le déficit énergétique, entraînant des troubles de la croissance folliculaire (Driancourt ., 2001).

Chez la jument, les variations cytologiques utérines au cours du cycle ne concernent que les cellules épithéliales, dont l'aspect change (KNUDSEN, 1964). Normalement, on n'observe des neutrophiles sur le frottis à aucun moment du cycle, ou alors très peu : 0,4% selon (AGUILAR et al. 2006). Les neutrophiles ne sont présents chez la jument saine que lors du premier œstrus post-partum (KNUDSEN, 1964) et durant la semaine qui suit la saillie ou

l'insémination (WINGFIELD DIGBY, 1978)

b-2)-Variations quantitatives

Chez la vache, le taux de neutrophiles dans le mucus cervical varie significativement au cours du cycle, mais avec des intervalles de confiance assez larges (Tableau 05; AHMADI et al., 2000 cités par AHMADI et al., 2006).

Chapitre II : Cytologie endometriale

| Stade du cycle | Pourcentage moyen de neutrophiles (% ± Intervalle de Confiance) |
|----------------|--|
| Œstrus | 0.10 ± 0.10 |
| Metœstrus | 17.60 ± 8.83 |
| Dicœstrus | 0.50 ± 0.30 |
| Pro-œstrus | 3.60 ± 1.44 |

Tableau (05): Variation du taux de neutrophiles cervical au cours du cycle chez la vache

(d'après AHMADI et al., 2000)

chez la vache, l'afflux leucocytaire est plus important en œstrus qu'en dicœstrus 4h après la contamination, mais devient comparable 12h après contamination (HAWK et al.(1964) cités par LANDER et al.(1990)).

c) Variation de la cytologie génitale post-partum

Chez une vache ne présentant pas de signes cliniques d'endométrite, le taux de neutrophiles utérin diminue progressivement dans les deux mois post-partum. Ainsi, le taux de neutrophiles est d'environ 14% entre 20 et 30 joursPP alors qu'il n'est plus que d'environ 4% entre 34 et 47 jours PP (KASIMANICKAM et al., 2005). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de (GILBERT et al. 2004), dans laquelle la prévalence de cytologie positive (seuil subjectif correspondant à 5% de neutrophiles) dans une population de vaches apparemment en bonne santé est de 100% à 2 semainesPP, 89% à 4 semaines, 58% à 6 semaines, 41% à 8 semaines, avec une inflammation de plus en plus sévère.

A l'inverse, d'après (AHMADI et al. (2006), le taux de neutrophiles cervical ne varie pas significativement au cours du post-partum, les deux intervalles comparés étant 25-30 jours et 55-60 jours PP.

chez la vache, la présence de neutrophiles est systématique post-partum, et le taux de neutrophiles utérins diminue progressivement au cours des deux premiers mois post-partum. Les variations de ce taux au cours du cycle œstral demandent davantage d'exploration.

Les cytologies issues de juments qui viennent de pouliner, plus de 7 à 10 jours PP, présentent encore une petite proportion de neutrophiles, un

Chapitre II : Cytologie endometriale

assez grand nombre d'hématies et des macrophages (COUTO et HUGHES, 1984 ; BROOK, 1985).

c-1)-Interprétation quantitative

Chez la vache, dans une étude où le prélèvement cytologique était le lavage utérin, (GILBERT et al. (2004) ont utilisé un seuil de positivité subjectif (présence de cellules inflammatoires, surtout des neutrophiles, occasionnellement des macrophages et peu de lymphocytes) qui n'a pas empêché une bonne corrélation entre deux lecteurs différents. Ce seuil subjectif semblait correspondre approximativement à 5% de neutrophiles. (BARLUND et al. (2008) ont quant à eux choisi comme seuil de positivité le plus petit taux de neutrophiles associé ($p < 0.05$) à une diminution du taux de gestation à 150 jours PP, à savoir 8%. La cytologie était obtenue à partir d'une cytobrosse.

Dans une autre étude (KASIMANICKAM et al., 2004), une courbe ROC ("Receiver/Response Operating Characteristics") a été réalisée. La courbe (Figure 14) comporte en ordonnée la sensibilité (Se) d'une technique et en abscisse l'opposé de sa spécificité (1-Sp). La spécificité et la sensibilité ont été calculées pour tous les taux de neutrophiles trouvés à partir d'une cytologie par cytobrosse, avec comme critère de référence la présence ou non d'une gestation à 132 jours PP. Ce chiffre de 132 jours a été choisi car c'est la valeur moyenne de l'intervalle vêlage-fécondation dans le groupe étudié.

Le seuil de positivité correspond alors au point où la sensibilité et la spécificité sont optimales. Pour les vaches testées entre 20 et 33 jours, ce seuil est de 18%. Pour celles testées entre 34 et 47 jours, il est de 10%. Ces résultats sont en accord avec les constatations de (KASIMANICKAM et al. (2005) et (GILBERT et al. (2004) .

Il est logique que le taux de neutrophiles seuil diminue au cours du post-partum puisque, dans cette espèce, le taux de neutrophiles chez une vache saine en fait autant.

Chapitre II : Cytologie endometriale

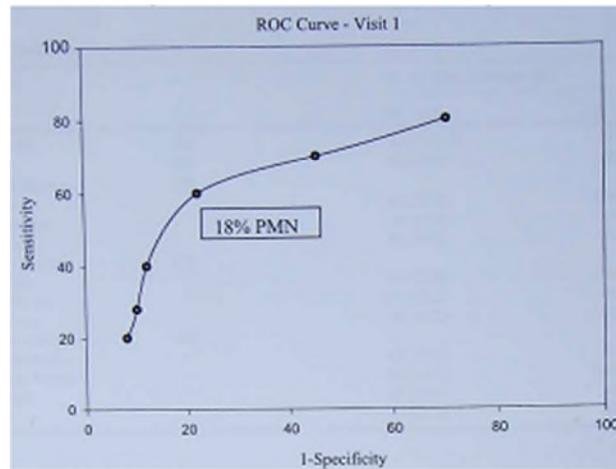


Figure (14): Courbe ROC permettant d'établir le taux seuil de neutrophiles entre 20 et 33 jours PP chez la vache.

(KASIMANICKAM et al., 2004)

4)- 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

Chapitre II : Cytologie endométriale

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 négative

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 supérieur 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

Chapitre II : Cytologie endometriale

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 cytologique 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’écarter 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**)

conclusion

L'examen cytologique est plus facile que l'utilisation des biopsies. Il est considéré depuis quelques années chez la vache, comme technique de référence pour l'évaluation du statut inflammatoire de l'appareil génitale. Toutefois, c'est une technique fiable et rapide et non coûteuse pour évaluer le statut physiologique.. alors que la biopsie utérine nous oriente à l'évaluation de la fertilité dans la plupart des espèces.

Reste maintenant à déterminer lequel des deux examens (cytologique du col et du corps versus histologique du corps) serait le meilleur témoin des performances de reproduction ultérieures ou plus exactement de l'intérêt d'un traitement de l'endométrite pour l'amélioration des performances de reproduction. Tout ceci sans oublier que, le choix de la ou des techniques diagnostiques revient en premier lieu au praticien : or à l'heure actuelle, il s'avère difficile pour les vétérinaires de mettre en œuvre la cytologie, pourtant non invasive et peu coûteuse mais nécessitant coloration, temps de lecture et une seconde visite pour traiter les animaux malades identifiés. Même si l'histologie se révélait de meilleure valeur diagnostique, cet examen présente plusieurs inconvénients en pratique : la plus grande difficulté du prélèvement qu'en cytologie, le délai nettement supérieur pour l'obtention du résultat ainsi que la nécessité d'un envoi à un laboratoire extérieur et le coût.

References bibliographiques

AGUILAR J, HANKS M, SHAW DJ, ELSE R, WATSON E. (2006) Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares. *Theriogenology*, **66**, 423-430.

Ahmadi M.R., Nazifi S., Ghaisari H.R. (2006) Comparison of hormonal changes of oestrous cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp Clin Pathol*, **15**, 2, 94-97.

Azawi O.I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **105**, 187-208.

Bacha W.J., Bacha L.M. (2010) Color atlas of veterinary histology second edition. *Female reproductive system*, ed Dona Balado, Maryland, Baltimore, 221-243.

Barlund C.S., Carruthers T.D., Waldner C.L., Palmer C.W. (2008) A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, **69**, 714-723.

Barone Robert., 1978. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome3. SplanchnologieII. Appareil uro-génital. Foetus et annexes. Péritoine et Topographie abdominale. *Laboratoire d'anatomie Ecole nationale vétérinaire Lyon.* 283- 327, 317-318.

Bergman R.V, Kenney R.M. (1975) Representativeness of a uterine biopsy in the mare. *Proc 21^o annual convention of the Amer. Assoc. of Equine Pract*, 1-3/12/1975, Boston, Ed: Frank J, Milne D.V.M, University of Guelph, Ontario, 355-362.

Betsch, J.M. 1992. Diagnostic de l'infertilité d'origine cervico-utérine chez la jument. *Rec. Med. Vet.Special Reproduction des Equides.* Vol. 168, 11/12, pp. 1011-1027.

Betsch, J.M. 2003 b. Comment faire une biopsie utérine ? *Prat. Vet. Equine.* Vol. 35, 140, pp. 59-60.

Bretzlaff K. (1987) Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Prac*, **3**, 1987, 593-598.

References bibliographiques

Brook, D. 1993. Uterine Cytology. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 246-254.

BROOK D. (1985) Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium. *Equine Veterinary Science*, **5**, 16-22.

Carleton C.L. (1997) Clinical examination of the nonpregnant equine female reproductive tract. In : Youngquist and Threlfall, editor. *Current therapy in large animal theriogenology 2*. WB Saunders Compagny, St Louis, 1997, 74-90.

Chaffaux S., Recorbet Y., Bhat P., Crespeau F., Thibier M. (1987) Biopsie de l'endomètre au cours du post-partum pathologique chez la vache. *Rec. Med. Vet*, 163 (2), 199-209.

Chapwanya A., Meade K.G., Narciandi F., Stanley P., Mee J.F., Doherty M.L., Callanan J.J., O'Farrelly C. (2010) Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology*, 73, 988-994.

Christensen B.W., Schlafer D.H., Agnew D.W., Wang C., Kozlowski C., Asa C.S. (2012) Diagnostic value of transcervical endometrial biopsies in domestic dogs compared with fullthickness uterine sections. *Reprod. Dom. Anim.*, 47 (Suppl. 6), 342-346.

Cicinelli E., Resta L., Nicoletti R., Zappimbulso V., Tartagni M., Saliani N. (2005) Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Human Reprod.*, 20 (5), 1386-1389.

COUTO MA, HUGHES JP. (1984) Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare. *Equine Veterinary Science*, **4**(6), 265-272.

De Bois C.H.W., Manspeaker J. (1986) Endometrial biopsy of the bovine. In : Morrow DA, editor *Current therapy in theriogenology*. WB Saunders Compagny, Philadelphia, 1980, 424-6.

Deguillaume L., Chastant-Maillard S. (2009) Comment bien diagnostiquer les endométrites de la vache. *Bulletin des GTV*, 49, 101-105.

References bibliographiques

Dhaliwal G.S., Murray R.D., Woldehiwet Z. (2001) Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim. Reprod. Sci.*, 67, 2001, 135-152.

Dubuc J., Duffield T.F., Leslie K.E., Walton J.S., LeBlanc S.J. (2010) Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2010, 93, 5225-5233.

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, 1879-1888.

Gonzalez E., Crowell W.A., Caudle A.B., Thompson F.N. (1985) Morphometric studies of the bovine uterus: microscopic lesions and retrospective reproductive history. *Am. J. Vet. Res.*, 46, 2588-2595.

Greenhoff G.R., Kenney R.M. (1975) Evaluation of reproductive status of non pregnant mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1975, 167 (1), 449-458.

Gross L., LeBlanc M.M. (1984) Seasonal variation of histomorphologic features of equine endometrium. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184 (11), 1379-82.

Hartigan P.J., Griffin J.F.T., Nunn W.R., Murphy J.A. (1972) An investigation into the causes of reproductive failure in dairy cows. I. Gross and microscopic observations on the genitalia of slaughtered non-pregnant cows. *Irish vet. J.*, 26, 245-247.

Kalma Y., Granot I., Gnainsky Y., Or Y., Czernobilsky B., Dekel N., Barash A. (2009) Endometrial biopsy-induced gene modulation : first evidence for the expression of bladdertransmembranal uroplakin Ib in human endometrium. *Fertil. Steril.* 91, 1042-1049.

Kasimanickam R., Duffield T., Foster R.A., Gartley C.J., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H. (2005) A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J.*, 46(3), 255-9.

References bibliographiques

Kenney R.M., Doig P.A. (1986) Equine endometrial biopsy. In : Morrow DA, editor. *Current therapy in theriogenology 2. Diagnostic, treatment and prevention of reproduction diseases in small and large animals*. WB Saunders Compagny, Philadelphia, 723-729.

Kenney R.M. (1978) Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 172, 241.

KNUDSEN O. (1964) Endometrial cytology as a diagnostic aid in mares. *The Cornell Veterinarian Journal*, 54, 415-422.

Kübar H., Jalakas M. (2002) Pathological changes in the reproductive organs of cows and heifers culled because of infertility. *J. Vet. Med. A*, 49, 365-372.

LANDER CHACIN MF, HANSEN PJ, DROST M. (1990) Effects of stage of the estrous cycle and steroid treatment on uterine immunoglobine content and polymorphonuclear leukocytes in cattle. *Theriogenology*, 34, 1169-1184.

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(9), 2223-36.

Madoz L.V, Giuliadori M.J, Migliorisi A.L., Jaureguiberry M., De la Sota R.L. (2014) Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci*, 97, 1-7.

Manspeaker J.E., Haaland M.A., Robi M.G., Edwards G.H., Russek E. (1984) Endometrial biopsy in the bovine and endometrial pathology that affects fertility. In *Proc. XIIIth world Congress 1984*, on diseases of cattle, Durban, Hoechst ed 2, 818-825.

Messier S., Higgins R., Couture Y., Morin M. (1984) Comparison of swabbing and biopsy for studying the flora of the bovine uterus. *Can Vet J*, 25, 283-288.

References bibliographiques

Mir F., Fontaine E., Albaric O., Greer M., Vannier F., Schlafer D.H., Fontbonne A. (2013) Findings in uterine biopsies obtained by laparotomy from bitches with unexplained infertility or pregnancy loss: an observational study. *Theriogenology*, 79, 312-322.

Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W. (2009) *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 9ème ed Elsevier Saunders, London, 582-631.

Overbeck W., Witte T.S., Heuwieser W. (2011) Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, 75, 1311-1318.

Overbeck W., Jäger K., Schoon H.-A., Witte T.S. (2013) Comparison of cytological and histological examinations in different locations of the equine uterus-an in vitro study. *Theriogenology*, 79, 1262-1268.

Potdar N., Gelbaya T., Nardo L.G. (2012) Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure : a systematic review and meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 25, 561-571.

Pugliesi G., Scolari SC., Mesquita FS., Maturana Filho M., Araujo ER., Cardoso D., Sales JN., Martin I., Sa Filho M., Bertan CM., Binelli M. (2014) Impact of probing the reproductive tract during early pregnancy on fertility of beef cows. *Reprod Dom Anim*, doi : 49(4):e35-9.

Sheldon I.M., Cronin J., Goetze L., Donofrio G. Schuberth H.J. (2009) Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod* 81, 1025-1032.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516–30.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, and Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006;65 (8): 1516-1530.

References bibliographiques

Studer E and Morrow DA. Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *J Am Vet Med Assoc* 1978;172 (4): 489-494.

Tibary A., Bakkoury M. (1994) *Reproduction Equine*, tome I, La jument, ed Actes, Rabat, 129-139.

Watts J.R., Wright P.J. (1995) Investigating uterine disease in the bitch: uterine cannulation for cytology, microbiology and hysteroscopy. *J. Small. Anim. Pract.*, 36, 201-6.

Watts J.R., Wright P.J., Lee C.S., Whithear K.G. (1997) New techniques using transcervical uterine cannulation for the diagnosis of uterine disorders in bitches. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 51, 283-93.

WINGFIELD DIGBY N.J. (1978) The technique and clinical application of endometrial cytology in mares. *Equine Veterinary Journal*, **10** (3), 167-170.

Wyers M., Rey J.M. (1987) La biopsie de l'endomètre chez la jument. *Rec. Méd. Vét.*, 163 (2), 165-170.

Zaayer D., Van der Horst C.J. (1986) Non-fertility in cows: treatment with PGF and investigation of uterine biopsies. *Cytobios*, 1986, 45, 55-70.