

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR VÉTÉRIKAIRE



**THÈME :**

**ÉTUDE COMPARATIVE DES DONNÉES CYTOLOGIQUES  
ET HISTOLOGIQUES POUR LE DIAGNOSTIC DES  
ENDOMITRITES CHEZ LA VACHE À TIARET**

**PRÉSENTE PAR :**

-MEKHICI BENABBAD CHAIMAA  
-MECHERI SARA  
-MEKABRET FATIMA

**ENCADRE PAR :**

Dr. ZIDANE KHALED

**CO-ENCADRANT :**

AYAD MOHAMED EL AMINE

**ANNÉE UNIVERSITAIRE 2018-2019**

## A MON TRES CHER PERE

A celui qui m'a aidé à découvrir le 'savoir' le trésor inépuisable.

De tous les pères, tu as été le meilleur, tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité.

Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études.

Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme.

Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel.

Que Dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures le flambeau illuminant mon chemin...

Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce mémoire y contribuera en partie.

## A MA TRES CHERE MERE

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

A une personne qui m'a tout donné sans compter.

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi.

Sans toi, je ne suis rien, mais grâce à toi je deviens médecin vétérinaire.

J'implore Dieu qu'il te procure santé et qu'il m'aide à te compenser tous les malheurs passés.

Pour que plus jamais le chagrin ne pénètre ton cœur, car j'aurais encore besoin de ton amour.

Je te dédie ce travail qui grâce à toi a pu voir le jour.

Je te dédie à mon tour cette thèse qui concrétise ton rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements.

Tu n'a pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour, ta générosité exemplaire et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Tes prières ont été pour moi un grand soutien tout au long de mes études. J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect.

Puisse **Dieu** tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

Je t'aime maman...☞

## **A MES TRES CHERES SCEURS**

Quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour  
vous.

Je vous remercie, pour votre support et vos encouragements, et je vous dédie ce  
travail, pour tous les moments de joie et de taquinerie qu'on a pu partager  
ensemble.

Puisse DIEU, le tout puissant, vous préserver du mal, vous combler de santé et  
de bonheur.

**Je vous aime très fort...✍**

*A mon mari Zakaria*

*Pour l'amour et l'affection qui nous unissent.*

*Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu  
dont tu as toujours fait preuve.*

*Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a  
permis de réaliser le rêve tant attendu.*

*Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.*

*Je prie Dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et  
d'exaucer tous nos rêves.*

**Mecheri Sara**

**A toute la famille Mekhici benabbad, Mechri et Mekabret**

*Un profond respect et un remerciement particulier. Que ce travail soit un  
témoignage de ma gratitude et mon profond respect .*

**A mes tantes et oncles paternels et leurs conjoints**

**A mes tantes et oncles maternels et leurs conjoints**

*En témoignage de mon attachement et de ma grande considération.*

*J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux. Que ce travail vous apporte l'estime, et le respect que je porte à votre égard, et soit la preuve du désir que j'avais depuis toujours pour vous honorer.*

*Tous mes vœux de bonheur et de santé...✍*

**A mes cousins et cousines**

*Je vous dédie cette thèse tout en vous souhaitant une longue vie pleine de réussite, de santé et de bonheur...✍*

**A mes chères amies et collègues et tous Promo 2019 de l'institut des sciences vétérinaire-Tiaret (ISV)**

*En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de  
réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

*Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide. J'ai trouvé  
en vous le refuge de mes chagrins et mes secrets*

*Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de  
bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée.*

*Je prie Dieu pour que notre amitié et fraternité soient éternelles... ✍*

*Aux docteurs: Dr Zidane Khaled, Dr Ayad mohamed el amine, Dr Elassa*

*Houcine*

*A tous ceux qui j'ai omis involontairement de citer*

*Je Dédie ce travail à l'esprit de ma mère qui m'a donné la vie, et ma encouragé pour faire cette spécialité. Paix à son âme (mon amour), et à mon cher père dieu lui protège et prolonger sa vie, pour leur soutien inconditionnel, leur sacrifices, leur tendresses, leur amour infinies.*

*A mes sœurs qui ont été toujours avec moi, je souhait tout le bonheur durant leur vie.*

*A mes chers frères que dieu les garde pour moi.*

*A toute ma famille.*

*Les étudiants de promotion 2018 / 2019.*

**Mekabret Fatima**

# *Remerciements*

*En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.*

*A notre maître et président de jury de thèse,*

*Monsieur le docteur Saim mohamed said*

*Mes sincères remerciements pour bien vouloir présider notre jury de thèse, vous nous offrez le grand honneur et le grand plaisir.*

*Vos qualités humaines et professionnelles sont connues de tous et susciteront toujours notre admiration. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de notre gratitude et notre profond respect.*

*A notre maître et rapporteur de thèse*

*Monsieur le Docteur Ayad mohamed el amine*

*Je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez fait en me  
confiant ce sujet.*

*Votre modestie et votre simplicité font de vous en plus de vos  
qualités professionnelles, une référence de bon sens de  
compétence.*

*La gentillesse et la bienveillance avec lesquelles vous avez  
guidé mes pas dans ce travail ont suscité ma bonne volonté  
de donner de mon mieux.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de ma haute  
considération, ma profonde reconnaissance et ma sincère  
gratitude.*

*A notre maître et Examineur de thèse*

*Monsieur le docteur Derrar Sofiane*

*Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour  
l'honneur que vous me faites de bien vouloir juger ma thèse.*

*Vos qualités humaines et professionnelles, font de vous un  
enseignant aimé de tous.*

*Veillez trouver dans ce travail le témoignage de ma  
profonde estime et mon grand respect.*

**Je remercie enfin toutes les personnes qui m'ont aidée à  
réaliser ce travail et dont je n'ai pas cité le nom.**

## Liste des Tableaux

<b>N° du Tableau</b>	<b>Titre des Tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau n°01</b>	Classification des lésions d'endométrites chez la vache selon Chaffaux et al (1987).	<b>37</b>
<b>Tableau n°02</b>	Gradation du degré d'inflammation dans l'endométrite chez la vache(Chapwanya et al,2009).	<b>38</b>
<b>Tableau n°03</b>	Critères de diagnostic des endométrites par palpation transrectale.	<b>42</b>
<b>Tableau n°04</b>	Classification des germes responsables de endométrites en fonction de leur caractère pathogène (Williams et al. 2005).	<b>46</b>
<b>Tableau n°05</b>	Tableau représente les résultats statistiques	<b>96</b>
<b>Tableau n°06</b>	Tableau récapitulatif des résultats cytologique et histologique.	<b>76</b>

## Liste des Figures

<b>N° de Figure</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
<b>Figure n°01</b>	Coupe médiane du bassin de vache (barone,1990)	<b>06</b>
<b>Figure n° 02</b>	Conformation intérieure de l'appareil génital d'une vache vue dorsale,après ouverture et étalement de l'utérus,du vagin et du sinus uro-génital(Barone,1990).	<b>07</b>
<b>Figure n°03</b>	Section transversale d'une corne utérine de vache	<b>8</b>
<b>Figure n°04</b>	Coupe médiane du col de l'utérus de la vache(Barone,1990).	<b>9</b>
<b>Figure n°05</b>	Vue dorsale, après ouverture et étalement du col de l'utérus de la vache (Baronne,1990).	<b>9</b>
<b>Figure n°06</b>	Aspect histologique de l'utérus non-gravide de la vache(Pavaux,1981)	<b>11</b>
<b>Figure n°07</b>	Microphotographie d'une coupe transversale d'une corne utérine de chienne en anoestrus(Schalafer,2013).	<b>11</b>
<b>Figure n°08</b>	Histologie de l'endomètre de jument et des glandes utérines en anoestrus hivernal(peu de glande et droites)(Tibary et Bakkoury,1994).	<b>12</b>
<b>Figure n°09</b>	utérines (Barone, Histologie de l'endomètre de vache et des glandes 1978).	<b>12</b>
<b>Figure n°10</b>	C – Plis de la muqueuse cervicale d'une vache (grossissement 30x) D – Muqueuse cervicale de la vache (grossissement 320x) (Dellmann et Eurell, 1998)	<b>13</b>
<b>Figure n°11</b>	Schéma des stades de développement folliculaire (d'après Edson et al, 2009).	<b>17</b>
<b>Figure n°12</b>	Schéma de la folliculogenèse (adapté d'après McGee et al, 2000).	<b>18</b>
<b>Figure n°13</b>	Schéma des vagues folliculaires chez la vache (d'après Chastant-Maillard et al, 2005).	<b>19</b>
<b>Figure n°14</b>	Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle œstral.	<b>24</b>
<b>Figure n°15</b>	Classification des endométrites cliniques (Sheldon et al. 2009).	<b>28</b>
<b>Figure n°16</b>	Relation entre le degré d'endométrite clinique et la présence de germes pathogènes (Shledon et al. 2009)	<b>29</b>
<b>Figure n°17</b>	Ecoulement trouble(Hanzen,2009).	<b>30</b>
<b>Figure n°18</b>	Ecoulement mucopurulent(Hanzen,2009).	<b>30</b>
<b>Figure n°19</b>	Ecoulement purulent(Hanzen,2009).	<b>31</b>
<b>Figure n°20</b>	Ecoulement purulent(Chakri,2009).	<b>31</b>
<b>Figure n°21</b>	Pyomètre chez une vache (Hanzen, 2009).	<b>33</b>

## Liste des Figures

<b>Figure n°22</b>	Fouiller rectale chez une vache-Animation 3D(Harvey et vaillancourt,2003).	<b>42</b>
<b>Figure n°23</b>	Sonde intravaginale Métricheck ® (Deguillaume, 2010).	<b>44</b>
<b>Figure n°24</b>	Ecoulement purulent recueilli à l'aide d'un gant lubrifié (ENVA, 2009).	<b>44</b>
<b>Figure n°25</b>	Principe de la mise en place de la sonde intravaginale Métricheck® (Mee, 2007).	<b>45</b>
<b>Figure n°26</b>	Image échographique d'un pyomètre (la ligne jaune identifie les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine distendue) (Hanzen, 2009).	<b>48</b>
<b>Figure n°27</b>	Image échographique d'une endométrite chronique (la ligne bleue identifie les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine en étoile) (Hanzen, 2009).	<b>48</b>
<b>Figure n°28</b>	Pincés à biopsie de Pilling (Hanzen, 2013).	<b>50</b>
<b>Figure n°29</b>	Biopsie utérine : la taille appropriée du prélèvement (Tibary et Bakkoury, 1994).	<b>50</b>
<b>Figure n°30</b>	Curette de Novak (@ 1).	<b>50</b>
<b>Figure n°31</b>	Prélèvements ex vivo sur utérus d'abattoir (Deguillaume, 2011).	<b>52</b>
<b>Figure n°32</b>	Matériel d'utilisation de la cytobrosse (Deguillaume,2007).	<b>53</b>
<b>Figure n°33</b>	Cytobrosse et système de fixation au pistolet d'insémination (Deguillaume,2007).	<b>53</b>
<b>Figure n°34</b>	Photo de l'abattoir de Tiaret.	<b>60</b>
<b>Figure n°35</b>	Matériel des prélèvements cytologiques et histologiques.	<b>61</b>
<b>Figure n°36</b>	Prélèvements ex vivo sur utérus d'abattoir.	<b>62</b>
<b>Figure n°37</b>	Photo d'un frottis cytologique.	<b>63</b>
<b>Figure n°38</b>	Image indiquant la réalisation d'un prélèvement biopsique.	<b>64</b>
<b>Figure n°39</b>	Image représentante des prélèvements cytologiques et histologiques.	<b>64</b>
<b>Figure n°40</b>	Coloration des frottis cytologiques	<b>65</b>
<b>Figure n°41</b>	Frottis cytologiques endométriaux (grossissement 1000 x, coloration May-Grünwald-Giemsa) (Deguillaume, 2010).	<b>69</b>
<b>Figure n°42</b>	Grille de lecture des données cytologiques brutes aux données interprétables.	<b>71</b>
<b>Figure n°43</b>	Vache, Frottis cytologique endométrial (MGG, 400X) indique la présence de cellules épithéliales : a : Cellules épithéliales.	<b>75</b>
<b>Figure n°44</b>	Vache, Frottis cytologique endométrial (MGG, 400X), indique la présence des cellules épithéliales et une cellule lymphocytaire.	<b>75</b>
<b>Figure n°45</b>	Vache, Frottis cytologique endométrial CG (MGG, 400X).	<b>76</b>
<b>Figure n°46</b>	Vache, Frottis cytologique, Col (MGG, 400X).	<b>76</b>
<b>Figure n°47</b>	Nombre de lames positives et négatives.	<b>77</b>

## Liste des Figures

<b>Figure n°48</b>	Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles.	<b>78</b>
<b>Figure n°49</b>	Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite.	<b>79</b>
<b>Figure n°50</b>	Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche.	<b>80</b>
<b>Figure n°51</b>	Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin.	<b>81</b>
<b>Figure n°52</b>	Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du cervix.	<b>82</b>
<b>Figure n°53</b>	Vache, Epithélium utérin de type cylindrique (HE, 400X)	<b>83</b>
<b>Figure n°54</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche montrant l'infiltration de l'épithélium par les neutrophiles (HE, 400X)	<b>84</b>
<b>Figure n°55</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche montrant une hyperplasie de l'épithélium (HE, 400X).	<b>85</b>
<b>Figure n°56</b>	Vache, Coupe histologique de la corne droite montrant un détachement de l'épithélium de la membrane basale vers la lumière (HE, 100X).	<b>85</b>
<b>Figure n°57</b>	Vache, Coupe histologique du corps utérin indiquant un foyer ulcératif (HE, 100X).	<b>86</b>
<b>Figure n°58</b>	Vache, Coupe histologique de la corne droite indiquant une infiltration sévère par les neutrophiles (HE, 400X).	<b>87</b>
<b>Figure n°59</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche indiquant une infiltration par les lymphocytes et une imprégnation par l'hemosidérine (HE, 400X)	<b>87</b>
<b>Figure n°60</b>	Vache, Coupe histologique du corps utérin indiquant la présence d'œdème et de la congestion (HE, 100X).	<b>88</b>
<b>Figure n°61</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche indiquant la présence de l'hémorragie (HE, 400X).	<b>88</b>
<b>Figure n°62</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche représentant un aspect des glandes dilatées (HE, 400X).	<b>89</b>
<b>Figure n°63</b>	Vache, Coupe histologique de la corne gauche représentant un aspect des glandes kystiques avec un épithélium aplatie (HE, 100X).	<b>90</b>
<b>Figure n°64</b>	Nombre de lames positives et négatives.	<b>90</b>
<b>Figure n°65</b>	Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles.	<b>92</b>
<b>Figure n°66</b>	Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite.	<b>92</b>
<b>Figure n°67</b>	Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche.	<b>93</b>
<b>Figure n°68</b>	Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin.	<b>94</b>
<b>Figure n°69</b>	Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau du cervix.	<b>95</b>

## Liste des Abréviations

**IA1-IAF** : intervalle première insémination artificiel –insémination artificiel fécondante

**IM** : Intra musculaire

**IU** : Intra utérine

**V-IAF** : l'intervalle vêlage- insémination artificiel fécondante.

**PNN**: Polynucléaires Neutrophiles

**PMN** : Polymorphonucléaires

**N%** : taux de neutrophiles (nombre de neutrophiles parmi les 200 cellules dénombrées)

**GNN** : Granulocyte Neutrophile

**IA** : Insémination Artificielle

**JPP** : Jours post-partum

**LH** : Hormone lutéinisante

**P4** : Progestérone

**PGF2 $\alpha$**  : Prostaglandine F2alpha

**PP** : Post-partum

**JPP**: Jour Post-partum

**GnRH**: Gonadotropin-Releasing Hormone

**FSH**: Follicle Stimulating Hormone

**IC**: Intervalles de confiance

# Table des matières

Dédicace.....	
Remerciements.....	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des Abréviations.....	V
Table des Matières.....	VI
Résumé.....	XI
Abstract.....	XII
Introduction Générale.....	2

## Partie Bibliographique

### CHAPITRE I:Anatomie,Histologie, et Physiologie de l'Appareil Génital de la vache.

I. Anatomie de l'utérus.....	6
I.1.Dimensions et Rapport.....	6
I.2.Aspect macroscopique des cavités.....	8
II.1.Histologie .....	10
a)L'endomètre ou muqueuse.....	10
b)Le myomètre ou tunique musculieuse.....	10
c) Le périmètre ou tunique séreuse.....	11
II.2.Particularités du col de l'utérus.....	13
III. Physiologie sexuelle de la vache.....	14
III.1 Régulation hormonale de la reproduction.....	14
a) L'hypothalamus.....	14

b) L'hypophyse.....	14
c) Autres facteurs hormonaux de régulation.....	15
III.2. Ovogenèse et évolution folliculaire.....	15
a) Ovogenèse.....	15
b) Folliculogenèse.....	16
III.3. La puberté.....	19
III.4. Le cycle ovarien.....	20
a) Les phases du cycle œstral.....	20
b) Bilan : la régulation du cycle œstral.....	23
c) Maintien de la gestation.....	24

## **CHAPITRE II:Les Endométrites et les Différentes Examens de Diagnostic**

I. Les endométrites chez la vache.....	27
a) L'endométrite clinique.....	27
b) L'endométrite subclinique.....	32
I.1. Cas du pyomètre.....	32
II. La réalisation de la biopsie utérine.....	33
A. Les premières biopsies utérines en médecine vétérinaire.....	33
B. Les principes de la biopsie utérine.....	34
III. L'analyse histologique de la biopsie utérine dans la recherche d'endométrite.....	35
III.A.L'intérêt de l'histologie chez la vache.....	35
III.B. Modifications au cours de l'involution utérine chez la vache.....	35
IV.Méthodes de diagnostic .....	39
IV.1 . Anamnèse.....	39

IV.2	L'examen général.....	39
IV.3.	La palpation rectale.....	40
IV.4.	L'examen vaginal.....	43
IV.4.1	Méthodes d'examen vaginal.....	43
IV.5.	L'examen bactériologique.....	45
IV.5.1	Méthodes de prélèvement.....	45
IV.5.2.	Intérêt diagnostique.....	45
IV.6.	L'examen échographique.....	46
IV.7.	L'examen anatomopathologique.....	48
V.	L'examen cytologique.....	50
V.1.	Matériel et méthodes de l'examen cytologique.....	50
VI.	Impact des endométrites.....	52
VI. I.	Conséquences d'endométrite.....	53
❖	Conséquences sur la fonction ovarienne.....	53
❖	Conséquences zootechniques.....	54
VII.	Traitement.....	54
VII .1.	Antibiothérapie par voie général.....	54
VII .2.	Anti-inflammatoires par voie générale.....	54
VII .3.	Prostaglandines F2 $\alpha$ (PGF2 $\alpha$ ).....	55
VII .4.	Antibiothérapie par voie intra-utérine.....	55
<b>Partie Exprérimentale</b>		
I.	Matériel et méthodes.....	60
I.1.	Lieu et durée du travail.....	60

I.2. Présentation de l'abattoir.....	60
I.3. Constitution de l'échantillon d'étude.....	61
I.4. Matériels de la cytologie.....	61
I.5. Matériels de l'histologie.....	62
I.6. Protocole expérimental.....	63
I.7. Préparation des échantillons.....	64
a. Réalisation des frottis.....	64
b. Réalisation des biopsies.....	65
I.8. Coloration des lames.....	66
a. Cytologie.....	66
b. Histologie.....	66
I.9. Lecture des lames.....	70
a. Cytologie.....	70
b. Histologie.....	71
I.10. Collecte, saisie et synthèse des données.....	71
a. Cytologie.....	72
b. Histologie.....	72
I.11. Analyse statistique.....	73
II. Résultats.....	75
A. Descriptions cytologiques.....	75
a. Description qualitative des populations cellulaires présente sur un frottis cytologique génital.....	75
b. Cytologie endométriale et endocervicale.....	75

c. Description quantitative du taux des neutrophiles par site.....	78
B. Descriptions histologiques.....	83
a. Evaluation qualitative.....	83
1. Epithélium.....	83
a. Les couches profondes (stratum compactum et stratum spongiosum).....	87
b. Evaluation quantitative du taux des neutrophiles par site.....	91
C. Analyse statistique entre les deux tests cytologique et histologiques.....	96
III. Discussion.....	99
A. Protocole expérimental.....	99
1. Constitution de l'échantillon d'étude.....	99
2. Préparation des lames d'histologie.....	100
3. La lecture des frottis et des coupes histologiques.....	100
a. Les frottis.....	100
b. Les biopsies.....	100
B. Résultats.....	100
1. Qualifier le statut inflammatoire.....	100
a. Les frottis.....	100
b. Les biopsies.....	101
2. Homogénéité de l'inflammation entre les différents secteurs génitaux.....	102
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>104</b>
<b>Recommandations.....</b>	<b>106</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# Résumé

---

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la concordance entre les résultats cytologiques et les résultats histologiques, et d'apprécier l'homogénéité de l'inflammation au sein de l'appareil génital dans les prélèvements cytologiques et histologiques. La technique de référence pour le diagnostic des endométrites de la vache en post-partum est actuellement la cytologie, sur la base d'un prélèvement réalisé à l'aide d'une cytobrosse stérile ou bien un écouvillon au niveau du corps utérin. Néanmoins, la cytologie n'évalue que l'état de la muqueuse et de plus en un seul site de l'appareil génital. Une étude ex vivo a été réalisée sur 30 utérus collectés au niveau de l'abattoir de Tiaret en réalisant deux prélèvements à 4 différents sites de l'utérus (cervix (col), corps utérin, corne droite et corne gauche), un pour l'examen cytologique et un pour l'histologie. Nous avons pu identifier qu'il y a une mauvaise concordance entre la cytologie et l'histologie ( $P= 0,02$ ). L'épithélium, souvent absent dans les lames, n'est pas indispensable à la notation. D'après cette étude nous avons trouvé que l'homogénéité inter site de prélèvement cytologique et histologiques n'était pas présente ce qui peut fausser ou bien sous-estimé l'état inflammatoire de l'utérus. Le cervix peut présenter une inflammation sans qu'il soit une inflammation des autres sites et vice versa. Les taux de neutrophiles des deux cornes et du corps utérin étaient en bonne concordance pour le test cytologique. En conclusion, l'examen cytologique reste toujours le plus facile à réaliser mais qui risque de sous-estimé le degré d'inflammation utérin. La biopsie utérine fournis plus de résultats mais sa pratique est très difficile à réaliser.

**Mots-clés : Cytologie, histologie, neutrophiles, diagnostic, endométrite, vache**

### **Abstract**

This study aims first at evaluating the concordance between both cytological and histological results, and at assessing the homogeneity of inflammation in the cytological and histological samples within the genital tract. Cytology is currently the standard technique for the diagnosis of the endometritis in postpartum cow based on a sample that is taken by a sterile cytobrush or a swab in the uterine body. However, cytology evaluates only the condition of the mucosa, for more, at a single site of the genital tract. An ex vivo study was implemented on 30 uteri collected from a slaughterhouse in Tiaret center. The researcher took two samples from 4 different sites of the uterus – cervix, uterine body, right horn and left horn- one for cytological examination and one for the histological one. It has been identified that there is a poor match between cytology and histology ( $P = 0.02$ ) noting that the epithelium- often absent in the blades- was not taken into consideration. Besides, according to of the research findings, the inter-site homogeneity of cytological and histological specimens was not present, which can distort or underestimate the inflammatory state of the uterus. Also, the cervix can show inflammation without being an inflammation of other sites and vice versa. In addition, the Neutrophil levels of both horns and uterine body were in good concordance for cytology test. In conclusion, cytological examination is still the easiest to achieve, but it may underestimate the degree of uterine inflammation; whereas, uterine biopsy provides more results, but its practice is very difficult to perform.

**Keywords: Cytology, Histology, Neutrophil, Diagnosis, Endometritis, Cow.**

# Introduction Générale

---

## Introduction Générale

Les endométrites sont un problème majeur chez la vache, leur survenue étant à l'origine d'une diminution des performances de reproduction et de pertes économiques pour l'élevage (Ahmadi et al., 2006a et 2009). En effet les vétérinaires se concentrent sur les maladies utérines postpartum. Car, elles altèrent la fertilité, réduisent la production laitière, et ont plus généralement des répercussions sur la santé de l'animal (Chapwanya et al, 2009). Il faut approximativement 32 jours de plus pour la moitié des vaches atteintes d'endométrite pour devenir gravides par rapport aux vaches non affectées et il est 1,7 fois plus probable que ces vaches soient abattues pour échec de reproduction (LeBlanc et al, 2002).

L'endométrite est une maladie utérine post-partum importante entraînant une perte économique grave en raison des coûts liés au traitement. On distingue des formes cliniques et des formes subcliniques. Une endométrite clinique se caractérise par la présence d'écoulements purulents ou mucopurulents dans le vagin, à partir de 21 jours post-partum et sans signes systémiques. Une endométrite subclinique est définie comme une inflammation superficielle de la muqueuse utérine au-delà de 21 jours post-partum (Sheldon et al, 2006).

Malgré l'absence de signes extérieurs, ces formes uniquement cytologiques sont à l'origine d'une détérioration des performances de reproduction. Les états inflammatoires postpartum de l'utérus commencent par une contamination bactérienne de la lumière utérine et l'afflux de leucocytes polymorphonucléaires (**PMN**), qui sont attirés vers l'utérus en raison de la sécrétion de chimiokines et jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire utérine (Sheldon et al, 2006).

L'endométrite a été diagnostiquée par diverses méthodes, mais aucune définition universellement acceptée de la maladie n'a été établie (Wagener et al, 2017). L'endométrite étant maintenant considérée comme une maladie inflammatoire, 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 (Deguillaume et Chastant-Maillard, 2009) et elle est le seul examen diagnostique qui permet d'objectiver les endométrites subcliniques (Kasimanickam et al, 2004 ; Overbeck et al, 2013). Peu coûteuse, facilement réalisable et objective, l'examen cytologique est donc utilisé pour comparer la valeur diagnostique des autres techniques (Barlund et al, 2008 ; Deguillaume et al, 2008 ; Dizien et al, 2008). En effet, de nombreuses méthodes diagnostiques sont utilisées sur le terrain afin d'évaluer le statut inflammatoire de l'utérus (Deguillaume, 2011). La palpation transrectale et l'échographie de

# Introduction Générale

---

l'appareil reproducteur sont couramment entreprises sur le terrain (Barlund et al, 2008 ; Kasimanickam et al, 2004), tandis que l'évaluation du mucus vaginal pour définir un écoulement inflammatoire par vaginoscopie ou l'outil Metricheck a également été utilisée (LeBlanc et al, 2002 ; McDougall et al, 2007). La cytologie utérine, permet de déterminer la proportion de cellules endométriale et de polymorphonucléaires (**PMN**), elle peut être une méthode de diagnostic plus précise car elle permet de différencier l'endométrite d'autres maladies de l'appareil reproducteur, telles que la vaginite ou la cervicite, réduisant ainsi le risque de poser de faux diagnostics positifs (Dubuc et al, 2010, Westermann et al, 2010).

La cytologie utérine peut être réalisée en utilisant une cytobrosse utérine, des techniques de lavage ou de biopsie (Gilbert et al, 2005). La méthode cytobrosse est plus fiable que la méthode de lavage, car cette dernière entraîne un degré de détérioration cellulaire plus élevé et prend plus de temps (Kasimanickam et al, 2005), tandis que la biopsie utérine est considérée comme plus invasive et coûteuse, ainsi que de plus en plus longue (Gilbert et al, 2005).

Pour cet examen cytologique, un seuil pathologique (% de neutrophiles) a donc été défini par des analyses statistiques comme le pourcentage de neutrophiles sur un frottis au dessus duquel les performances de reproduction sont significativement détériorées.

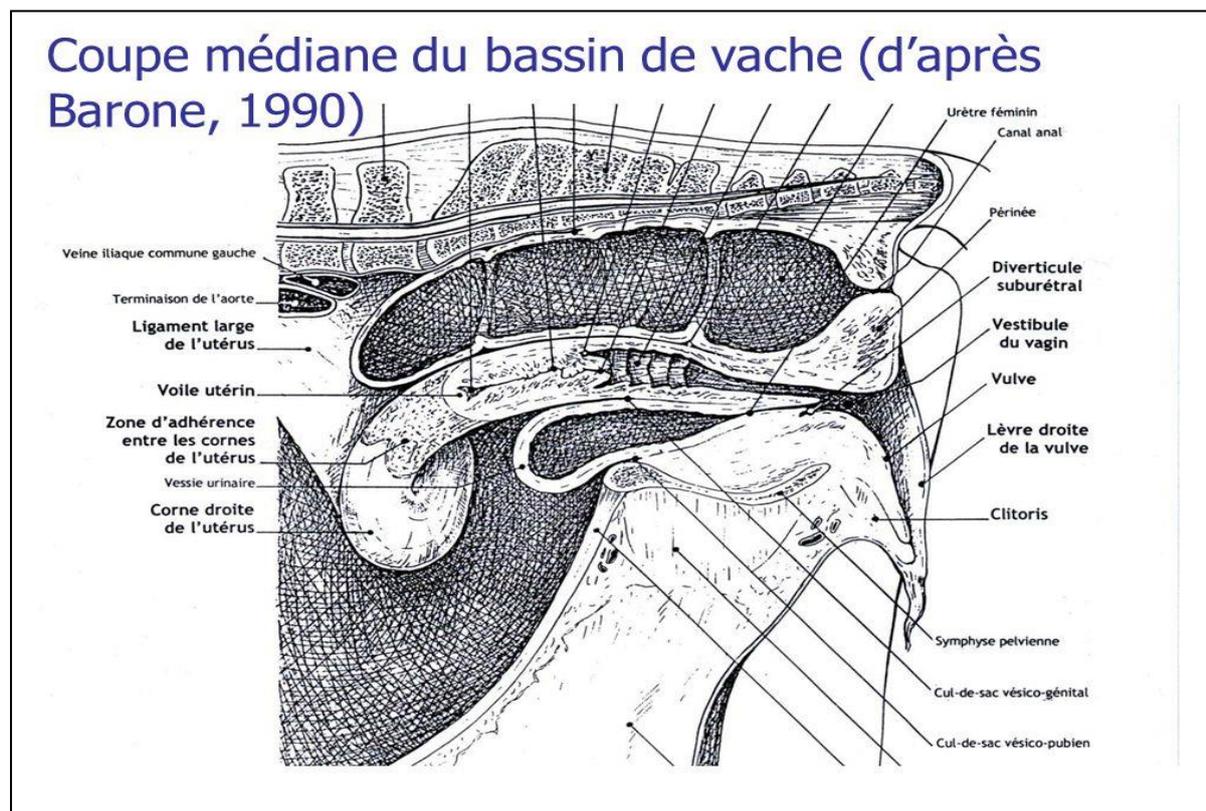
On peut donc s'interroger sur l'homogénéité de l'inflammation dans le prélèvement des différentes zones de l'appareil génital. De plus, l'examen cytologique, superficiel, reflète-t-il l'inflammation de la totalité de la paroi ?

L'objectif de ce travail est de comparer les observations obtenues par l'examen cytologique et par l'examen histologique ainsi que d'évaluer l'homogénéité de l'inflammation au sein de l'appareil génital chez la vache. L'étude expérimentale présentée ici consiste à prélever, ex-vivo, à l'abattoir, quatre zones distinctes de l'utérus de vache (col, corps utérin, cornes droite et gauche). Sur chaque zone, un prélèvement histologique et un prélèvement cytologique contigus ont été réalisés pour 30 utérus afin de comparer le statut inflammatoire de chaque site à travers la cytologie et l'histologie.

## I- Anatomie de l'utérus

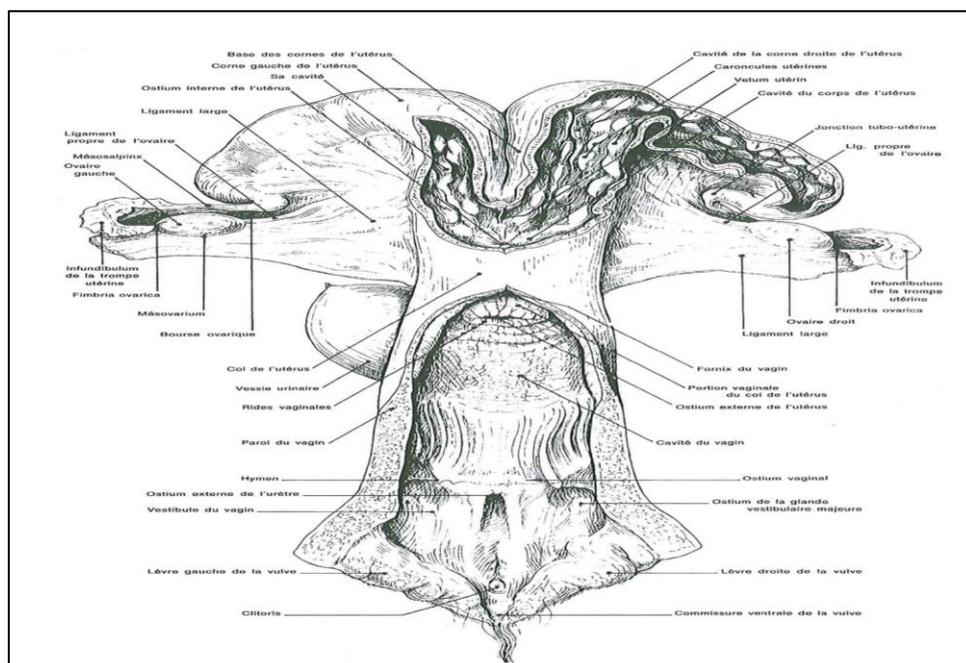
### I.1. Dimensions et rapport

L'utérus est formé de deux cornes utérines, d'un corps et d'un col ou cervix, barrière entre le corps utérin et le vagin. Chez la vache l'utérus est dite bipartite, c'est-à-dire que le corps est très court et les cornes sont longues. C'est un viscère creux, mais les cavités sont quasiment virtuelles chez l'animal vivant non gravide. Le corps et le col sont situés dans le bassin chez les génisses, puis le corps peut se trouver en partie ou en totalité dans l'abdomen après une gestation. Le corps et le col sont en rapport dorsalement avec le rectum, ventro-caudalement avec la vessie, et dans le reste de leur étendue avec le jéjunum (Figure n°1).



**Figure n°01:** Coupe médiane du bassin de vache (Barone, 1990).

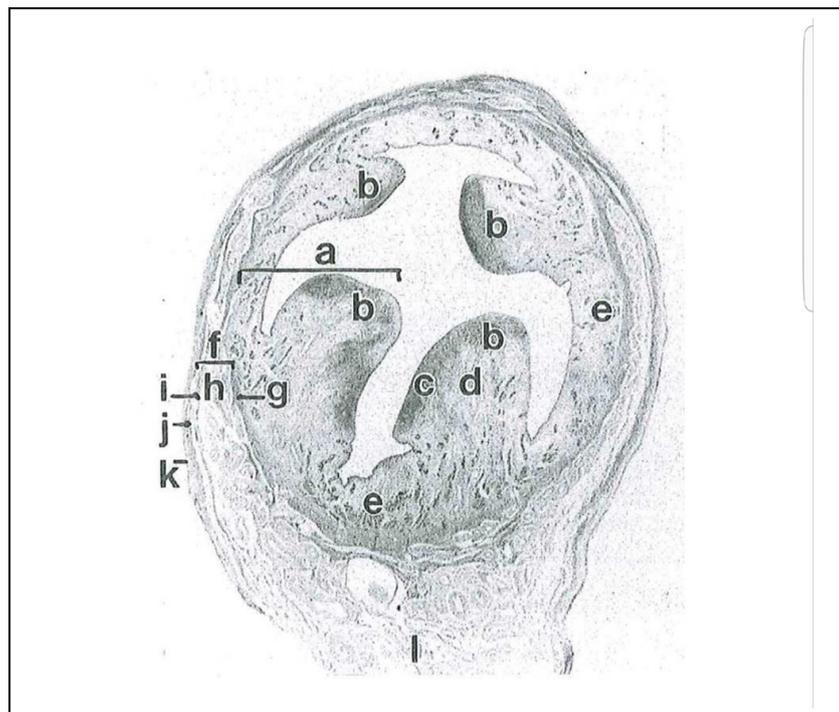
Les cornes font environ 40cm de long, elles sont enroulées en spirale. A leurs base le diamètre est de 3 à 4cm, et diminue progressivement jusqu'à 5ou6mm à l'apex. A cet endroit, chaque corne reçoit une trompe utérine. Les cornes sont accolées sur 10cm à leur base, où elles sont maintenues par un périmitrium commun. Elles se situent dans l'abdomen chez la vache(chez la génisse elles sont enroulées sur elles-mêmes et sont exclusivement situés dans le bassin),et sont en rapport avec différentes parties de l'intestin, les cul-de-sac du rumen(surtout le dorsal)et la vessie. Le corps utérin ne mesure que 3ou4cm. L'adossement des parois des cornes forment un éperon verticale médian au sein de la cavité du corps appel vélum utérin, qui réduit encore le volume de cette cavité du corps(figure n°2).Le col mesure environ 10cm de long, il est bien perceptible à la palpation transrectale du fait du très fort épaissement de la paroi à ce niveau. Il mesure 4 à 5cm de diamètre, et l'épaisseur de la paroi est de 2 à 2.5cm. Il communique avec la cavité du corps de l'utérus par l'ostium interne de l'utérus.



**Figure n°2:** Conformation intérieure de l'appareil génital d'une vache vue dorsale,après ouverture et étalement de l'utérus,du vagin et du sinus uro-génital(Barone,1990).

## I.2-Aspect macroscopique des cavités

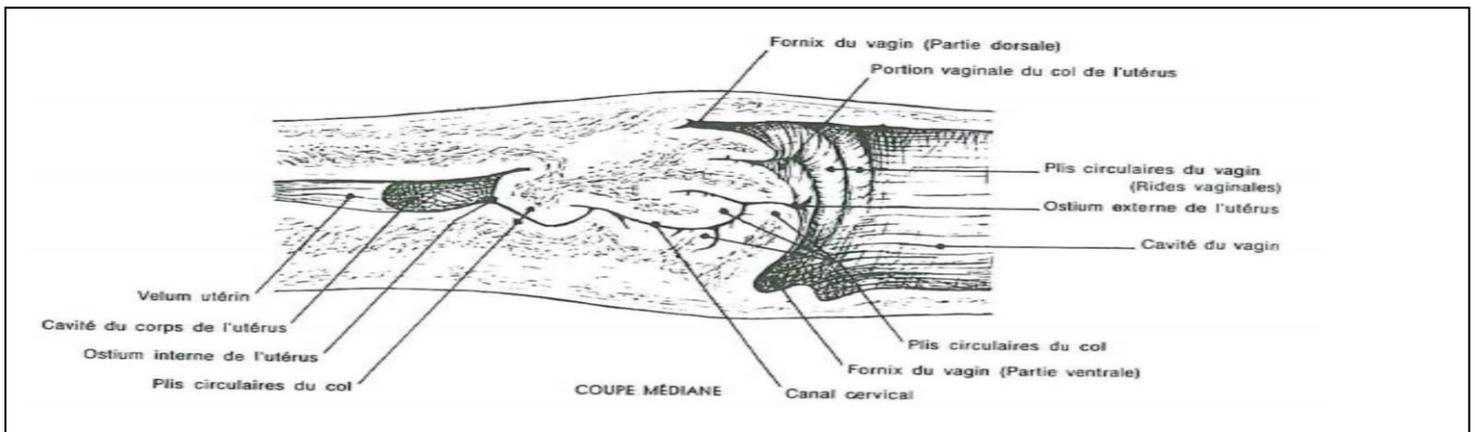
La cavum utérin est constitué des cavités du corps et des cornes. Les caractéristiques de la muqueuse sont quasiment les mêmes dans l'ensemble de ce cavum. Elle présente des plis longitudinaux, souvent interrompus de façon plus ou moins régulière par des sillons circulaires. Chez la vache, les principaux (figure n°3). Ces reliefs sont plus gros dans le corps et à la base des cornes que près de l'apex (Barone, 1990).



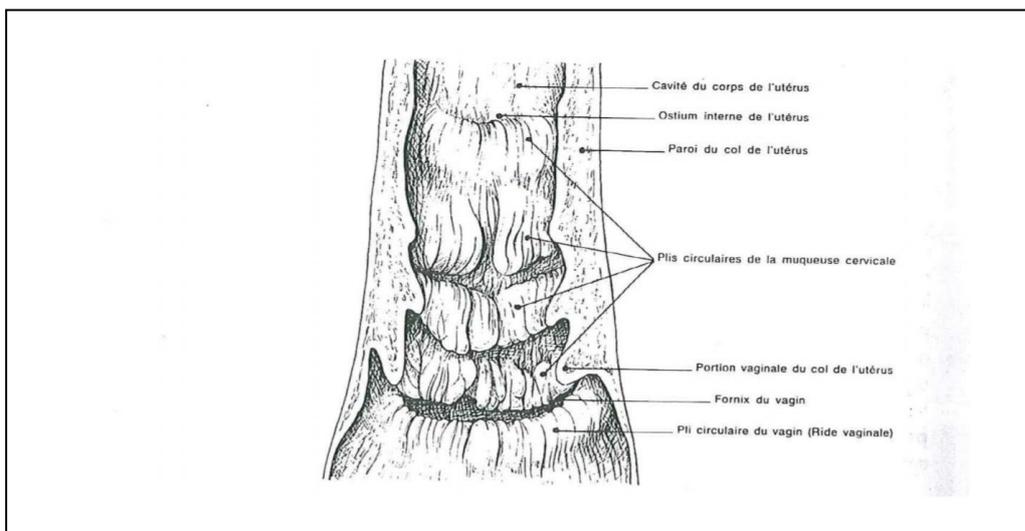
**Figure n°3:**Section transversale d'une corne utérine de vache

**a:**Endomètre; **b:**Caroncules utérines; **c:**Stratum compactum ;**d:**Stratum spongiosum;  
**e:**Glandes; **f:**Myomètre; **g:**Couche musculaire interne; **h:**Vaisseaux; **i:**Couche musculaire externe; **j:**Périmètre; **k:**Mésothélium; **l:**Mésotérium(Dellman et Eurell,1998).

Le col utérin possède une muqueuse qui est aussi plissée longitudinalement, ces plis étant fragmentés par des sillons circulaires entre les quels ils s'épaississent. Il y a quatre gros plis circulaire :le premier forme l'ostium interne de l'utérus et le dernier forme l'ostium externe de l'utérus, qui débouche au font du vagin. Il y forme un relief assez saillant,qui est doublé par quelques rangées de plis circulaires de la muqueuse du vagin(Dellman et Eurell,1998);(Figure n°4et5).



**Figure n°04:**Coupe médiane du col de l'utérus de la vache(Barone,1990).



**Figure n°05:**Vue dorsale, après ouverture et étalement du col de l'utérus de la vache (Baronne,1990).

## II. Histologie

La paroi de l'utérus est composée de:(**Figures n°6-7-8-9**):

### a) L'endomètre ou muqueuse :

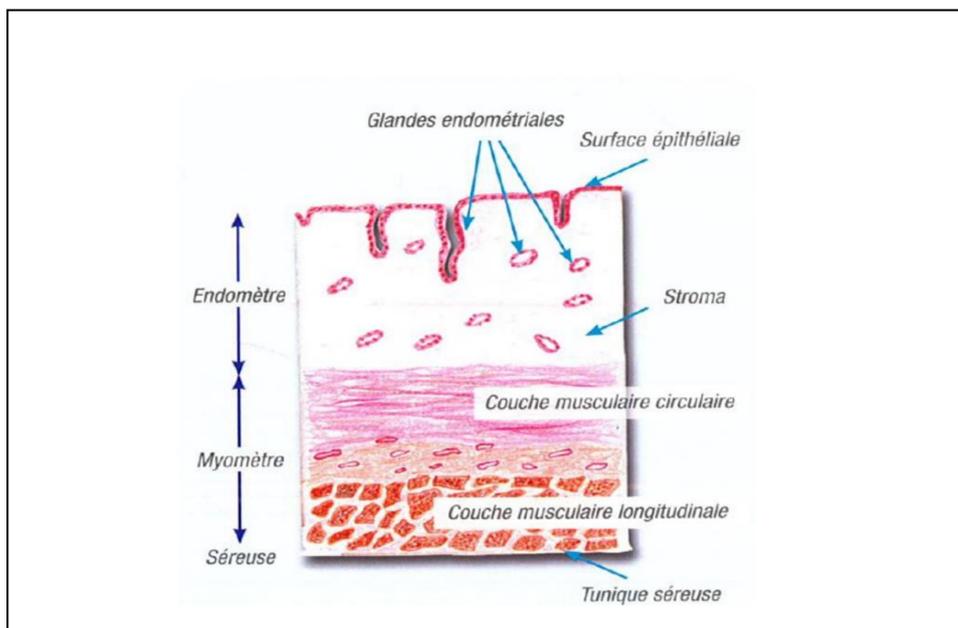
Il est formé d'un épithélium, d'un stroma et de glandes. L'épithélium est constitué d'une seule assise cellulaire dont les noyaux ont une position variable, lui donnant un aspect pseudo-stratifié. Il est pourvu de cellules sécrétrices et ciliées. Il est séparé du stroma par une mince membrane basale (Lamina propria). Le stroma représente la majeure partie de l'endomètre. La densité variable des fibres de collagène permet d'en distinguer deux parties : le stratum compactum au contact de l'épithélium et le stratum spongiosum plus profond. En plus de ces fibres de collagène, le stroma comporte deux types de cellules : les cellules fixes ou réticulaires et les cellules mobiles des lignées histocytaires, mastocytaires et granulocytaires. Les lymphocytes y sont également en grand nombre (Pavaux, 1981). Les glandes sont bordées par un épithélium simple, en continuité avec l'épithélium de surface mais dont les cellules ont une activité sécrétrice supérieure. Très actives avant l'implantation de l'oeuf, les glandes reviennent à l'état de repos au cours de la gestation.

### b) Le myomètre ou tunique musculuse:

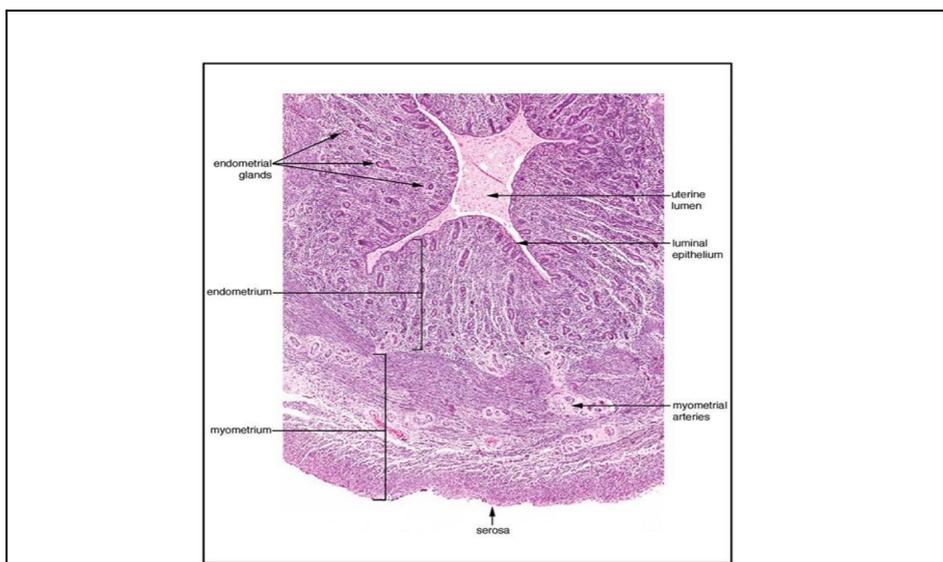
Le myomètre est composé de fibres musculaires lisses, disposées en deux couches : une couche externe longitudinale, assez mince qui d'une part réunit dans une enveloppe commune les portions parallèles des cornes et se poursuit d'autre part dans le ligament large et une couche interne, circulaire, propre à chaque corne qui est subdivisée par le plan vasculaire en une partie superficielle mince et une partie profonde épaisse (Pavaux, 1981).

### c) Le périmètre ou tunique séreuse:

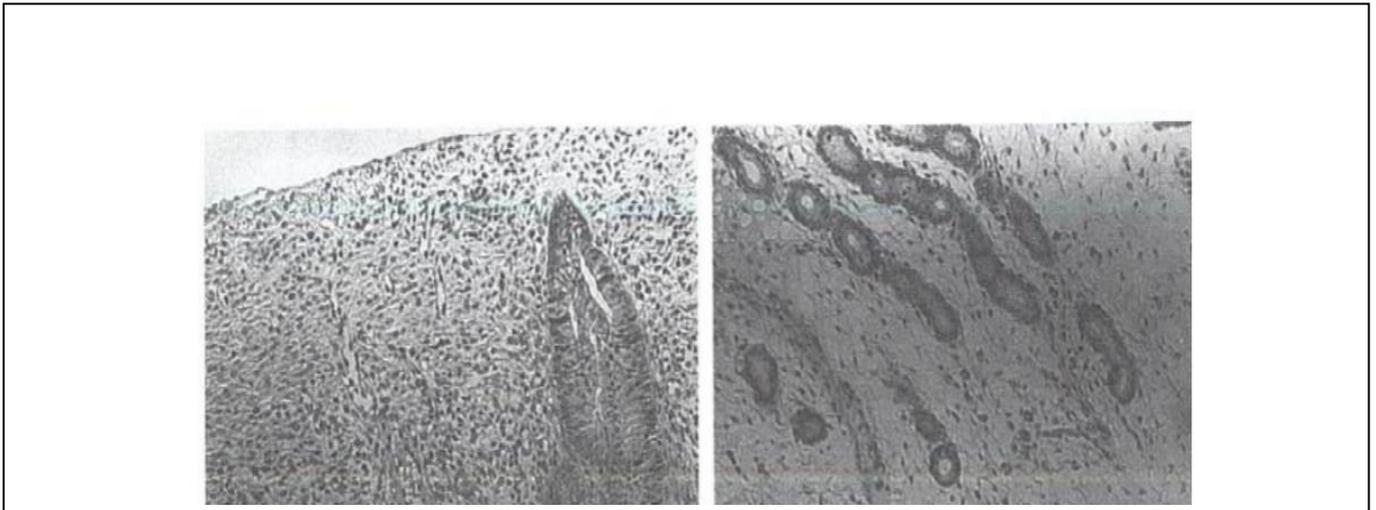
Le périmètre constitue la couche externe de l'utérus et enveloppe l'endomètre et le myomètre. Il est constitué du feuillet viscéral du péritoine recouvrant une fine sous séreuse riche en vaisseaux sanguins et parcourue de quelques fibres musculaires.



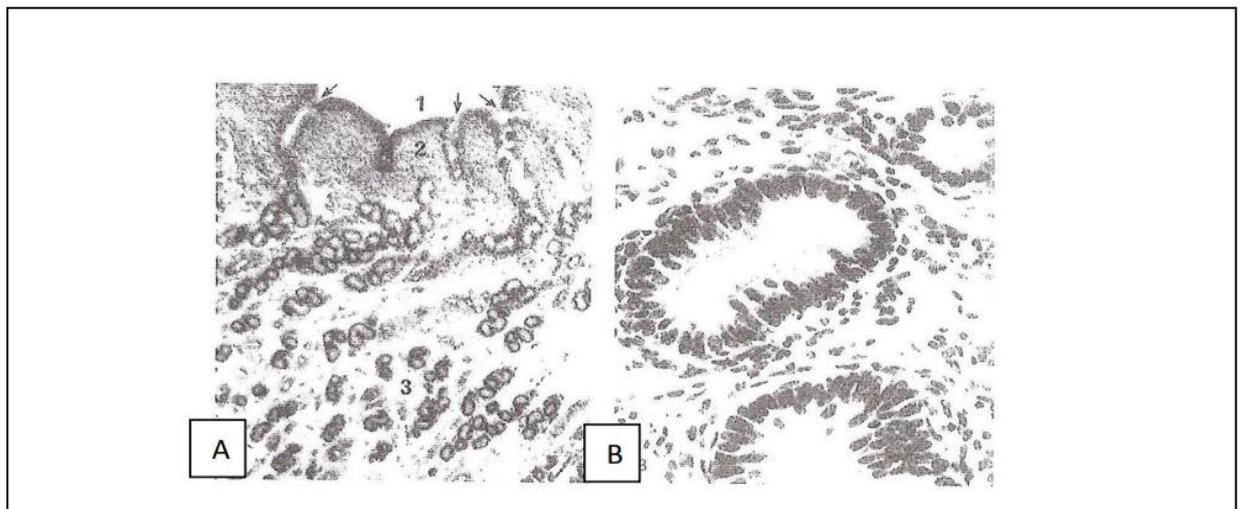
**Figure n°6:** Aspect histologique de l'utérus non-gravide de la vache (Pavaux, 1981)



**Figure n°7:** Microphotographie d'une coupe transversale d'une corne utérine de chienne en anooestrus (Schalafer, 2013).



**Figure n°8:** Histologie de l'endomètre de jument et des glandes utérines en anoestrus hivernal (peu de glande et droites) (Tibary et Bakkoury, 1994).



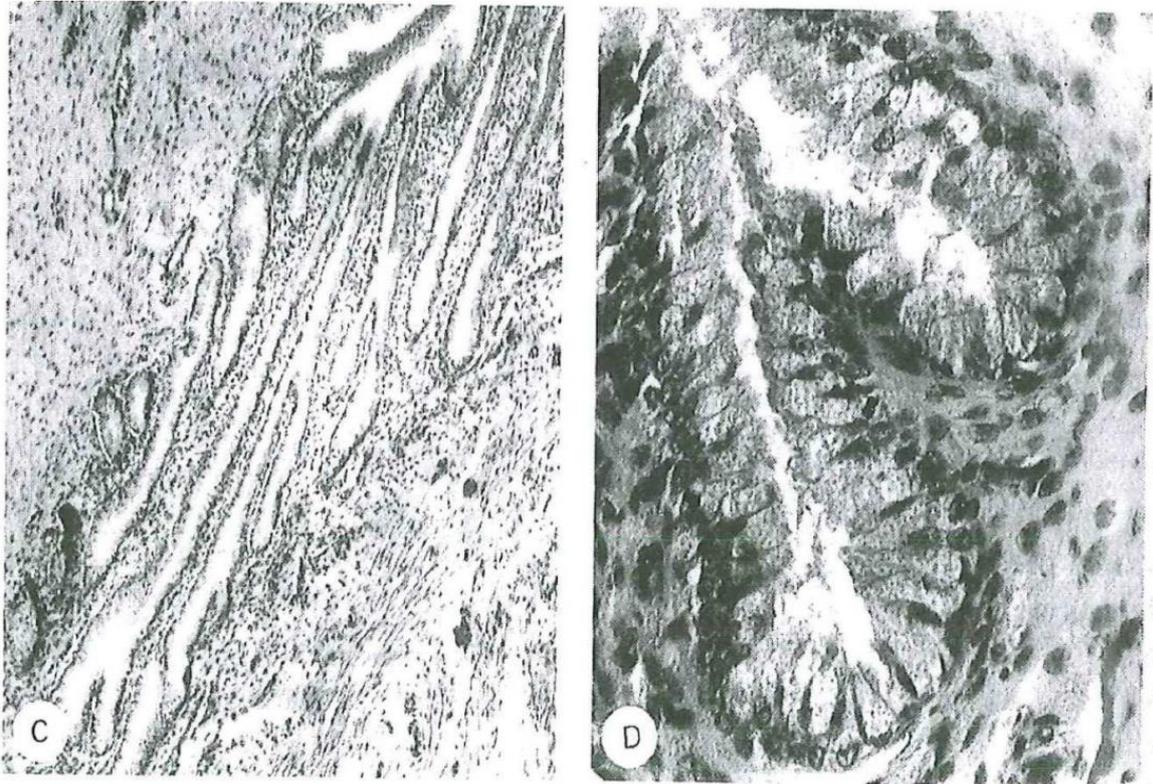
**Figure n°9 (x30) :** utérines (Barone, Histologie de l'endomètre de vache et des glandes 1978).

**A:** Fin du métoestrus; **B:** Glandes utérines de vache ; **1.** Lumière utérine, tapissée par l'épithélium. Les flèches indiquent les embouchures des glandes utérines; **2.** Stratum compactum riche en cellules; **3.** Stratum spongiosum (Vaisseaux et nombreuses glandes flexueuses).

## II.2.Particularités du col de l'utérus

La musculature cervicale est très épaisse, et elle est dépourvue de glandes. Les plis longitudinaux de la muqueuse sont subdivisés finement et leur paroi délimite des dépressions irrégulières, larges et plus ou moins profondes, où s'accumule le mucus qui est sécrété par toutes les parties de l'épithélium (Figure n°10).

L'épithélium comprend seulement un petit nombre de cellules ciliées. Le stroma est dense, moins riche en cellules mais pourvue de nombreuses fibres de collagène qui lui donnent sa consistance ferme (Dellmann et Eurell, 1998).



**Figure n°10** : C – Plis de la muqueuse cervicale d'une vache (grossissement 30x) D – Muqueuse cervicale de la vache (grossissement 320x) (Dellmann et Eurell, 1998).

L'épithélium cervical se raccorde de façon brusque à celui du vagin, pavimenteux et stratifié, au niveau de l'ostium externe de l'utérus (Barone, 1990).

Les caractères du col et de l'utérus étant différents aussi bien anatomiquement que sur le plan histologique, il est intéressant d'étudier leurs comportements respectifs lors du postpartum ou selon les phases du cycle œstral (Barone, 1990).

### **III. Physiologie sexuelle de la vache**

A partir de la puberté, la femelle non gestante possède une activité sexuelle cyclique qui se, traduit par une succession d'événements précis se produisant à des intervalles constants, selon un rythme propre à chaque espèce.

#### **III.1 Régulation hormonale de la reproduction**

##### **a) L'hypothalamus**

La « Gonadotropin Releasing Hormone » (GnRH) joue un rôle clé dans la régulation de la reproduction. Ce décapeptide est synthétisé selon un profil pulsatile par l'hypothalamus. Il stimule ensuite la synthèse et la sécrétion des hormones gonadotropes par l'hypophyse : la « Luteinizing Hormone » (LH) et la « Follicle Stimulating Hormone » (FSH) (Norris et al, 2010).

La réponse des hormones gonadotropes à la GnRH est variable. Ainsi, des pics de GnRH très fréquents (toutes les 8 à 30 minutes) stimulent plutôt la sécrétion de LH. A l'inverse, des pulses de GnRH plus espacés (de 2 à 4 heures) se traduisent par une augmentation de la sécrétion de FSH (Ferris et al, 2006 ; Thompson et al, 2014).

##### **b) L'hypophyse**

La LH et la FSH sont deux hormones synthétisées par l'hypophyse antérieure, ou adénohypophyse, sous le contrôle de la GnRH. Après avoir été relarguées dans le torrent circulatoire, elles agissent à leur tour sur les ovaires. La FSH intervient notamment dans la maturation des follicules, alors que la LH est le signal déterminant de l'ovulation (Forde et al, 2011 ; Roche, 1996).

### **c) Autres facteurs hormonaux de régulation**

D'autres facteurs interviennent dans la régulation hormonale de la reproduction. C'est le cas de l'inhibine et de l'œstradiol sécrétés par les follicules ovariens, ainsi que de la progestérone.

L'inhibine est synthétisée par les cellules de la granulosa des follicules ovariens. Elle exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse de FSH par l'adénohypophyse (Neill, 2005 ; Norris et al, 2010).

L'œstradiol est également sécrété par les follicules. Ses effets varient selon le climat hormonal. Dans le cas d'une progestéronémie basse associée à une concentration sanguine en œstradiol élevée, le rétrocontrôle sera positif sur l'hypophyse avec l'induction d'un pic de LH (Forde et al, 2011 ; Roche, 1996).

En revanche, dans un contexte de forte concentration en progestérone associée à une teneur en œstradiol faible, l'œstradiol exerce un rétrocontrôle négatif sur libération de GnRH par l'hypothalamus (Norris et al, 2013).

Enfin, la progestérone est sécrétée par le corps jaune. Elle exerce une action inhibitrice au niveau de l'adénohypophyse (Norris et al, 2013).

## **III.2. Ovogenèse et évolution folliculaire**

### **a) Ovogenèse**

L'ovogenèse est l'ensemble des processus qui président à la formation et au développement des ovocytes fécondables.

Au cours de la vie embryonnaire (à partir du 80ème jour de gestation chez les bovins) les ovogonies, c'est-à-dire les cellules germinales, se multiplient rapidement puis entrent en phase I de méiose pour donner naissance aux ovocytes I. Elles restent alors bloquées au stade de prophase I de la méiose jusqu'à l'ovulation ou, plus fréquemment, jusqu'à l'atrésie (Mehlmann, 2005).

A la naissance, le stock d'ovocytes de l'individu est donc déterminé. On l'estime entre 10000 et 250000 dans l'espèce bovine (Saint-Dizier et al, 2014).

**b) Folliculogenèse**

Les follicules correspondent aux structures cellulaires qui entourent les ovocytes.

La folliculogenèse est l'ensemble des phénomènes qui assurent le maintien et la croissance de ces follicules. Elle débute par la formation des follicules primordiaux et se termine au moment de l'ovulation (Edson et al, 2009).

**➤ Stades de développement des follicules ovariens**

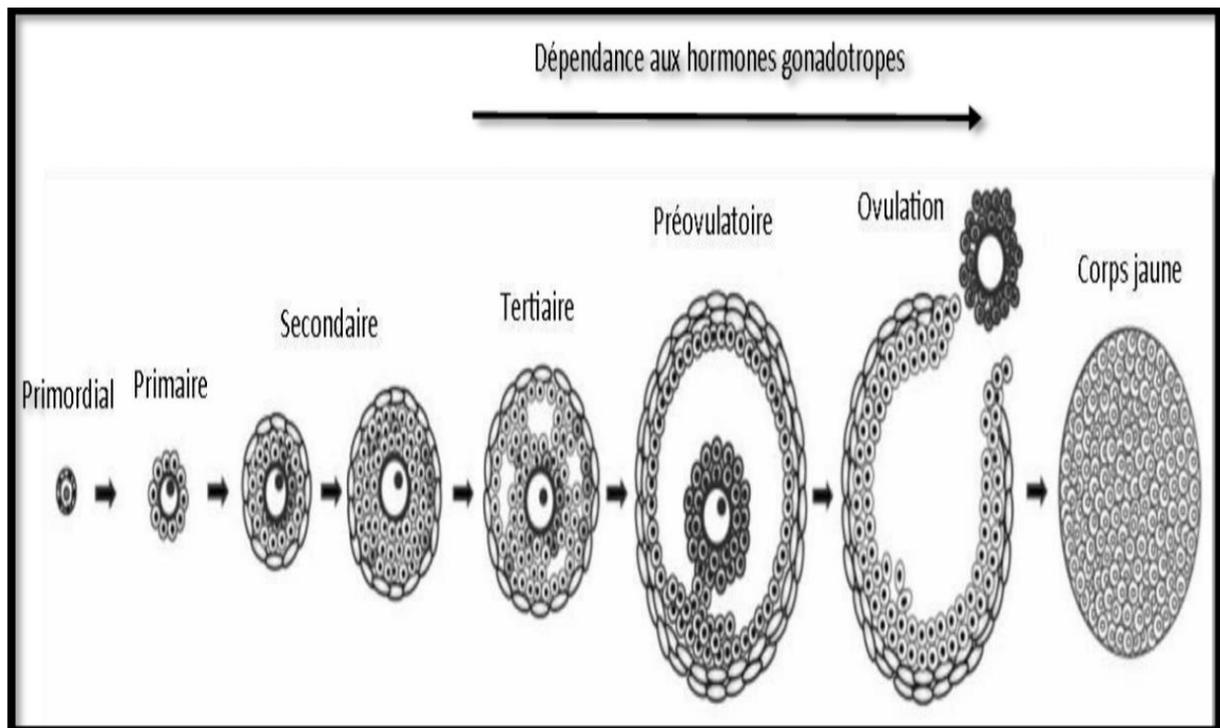
Au cours de la maturation folliculaire, les follicules évoluent progressivement à travers les stades suivants :

- ❖ **Les follicules primordiaux**, comme les ovocytes I, sont formés dès le développement fœtal. L'ovocyte est entouré de cellules épithéliales disposées en une couche unistratifiée : c'est le follicule primordial. Une fois leur formation terminée, certains follicules poursuivront leur croissance immédiatement, alors que d'autres ne le feront que plus tard dans la vie de l'individu (Monniaux, 2009).
- ❖ **Les follicules primaires** : L'épithélium folliculaire évolue en passant d'une couche de cellules aplaties à une couche de cellules cubiques (Edson et al, 2009).
- ❖ **Les follicules secondaires** : Ce stade est caractérisé par le développement de couches de cellules épithéliales supplémentaires ainsi que par l'apparition d'une couche supplémentaire en périphérie du follicule : la thèque.
- ❖ **Les follicules tertiaires** : des phénomènes de multiplication et de mort cellulaires aboutissent à la formation d'une cavité folliculaire appelée antrum. A partir de ce stade, le développement folliculaire est intimement dépendant des hormones gonadotropes, LH et FSH

De manière générale, les follicules évoluent ensuite vers la dégénérescence. Dans de rares cas (on estime que cela concerne 1 ovocyte sur 2000 chez la vache), le follicule tertiaire poursuit son évolution. Il atteint alors le stade pré-ovulatoire, on parle de follicule de De Graaf.

Chez la vache, la taille d'un follicule de De Graaf est comprise entre 10 et 20 mm. La palpation trans-rectale et surtout l'échographie des ovaires permettent de les repérer.

Au moment de l'ovulation, le follicule de De Graaf répond au pic de LH en libérant l'ovocyte dans le tractus génital avant d'évoluer lui-même en corps jaune ou corpus luteum (Edson et al, 2009 ; Norris et al, 2010). La figure n°11 représente ces stades folliculaires successifs.



**Figure n°11:** Schéma des stades de développement folliculaire (d'après Edson et al, 2009).

### ➤ Folliculogenèse basale

La folliculogenèse basale correspond aux premières étapes de la maturation folliculaire. Les follicules, bien que sensibles à la FSH, peuvent poursuivre leur évolution indépendamment de la production des hormones gonadotropes (Saint-Dizier et al, 2014 ; Edson et al, 2009).

Ce développement folliculaire initial se poursuit jusqu'à ce que les follicules atteignent une taille définie, qui est estimée à 3-4 mm dans l'espèce bovine (Monniaux, 2009). Au-delà de cette taille, la folliculogenèse entre dans sa phase terminale.

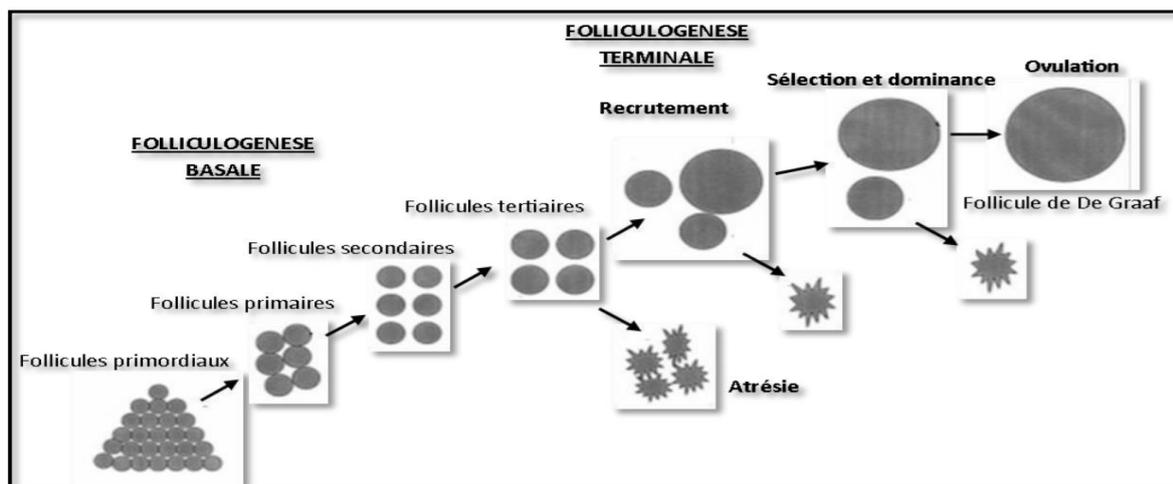
### ➤ Folliculogenèse terminale

La folliculogenèse terminale regroupe les étapes de la folliculogenèse strictement dépendantes de la production des hormones gonadotropes, de la FSH d'abord, puis de la LH.

Les étapes de la folliculogenèse terminale

Elle se déroule en trois étapes successives :

- **Le recrutement** : sous l'effet de la FSH, de dix à quinze follicules tertiaires sont recrutés et entrent dans une phase de croissance (McGee et al, 2000).
- **La sélection** : lorsque la taille de la majorité des follicules est d'environ 6 mm, l'inhibition de la FSH par l'oestradiol engendre une dégénérescence des follicules recrutés. Un seul follicule, dont la taille est légèrement supérieure aux autres (environ 8 mm), est alors sélectionné et acquiert des récepteurs à la LH qui lui permettent de poursuivre sa croissance malgré la faible concentration en FSH (Hopper, 2014).
- **La dominance** : le follicule sélectionné termine sa croissance grâce à la présence de LH. Cette croissance se poursuit jusqu'à environ 15-20 mm. la figure n°12 résume schématiquement l'ensemble des étapes de la folliculogenèse.



**Figure n° 12:** Schéma de la folliculogenèse (adapté d'après McGee et al, 2000).

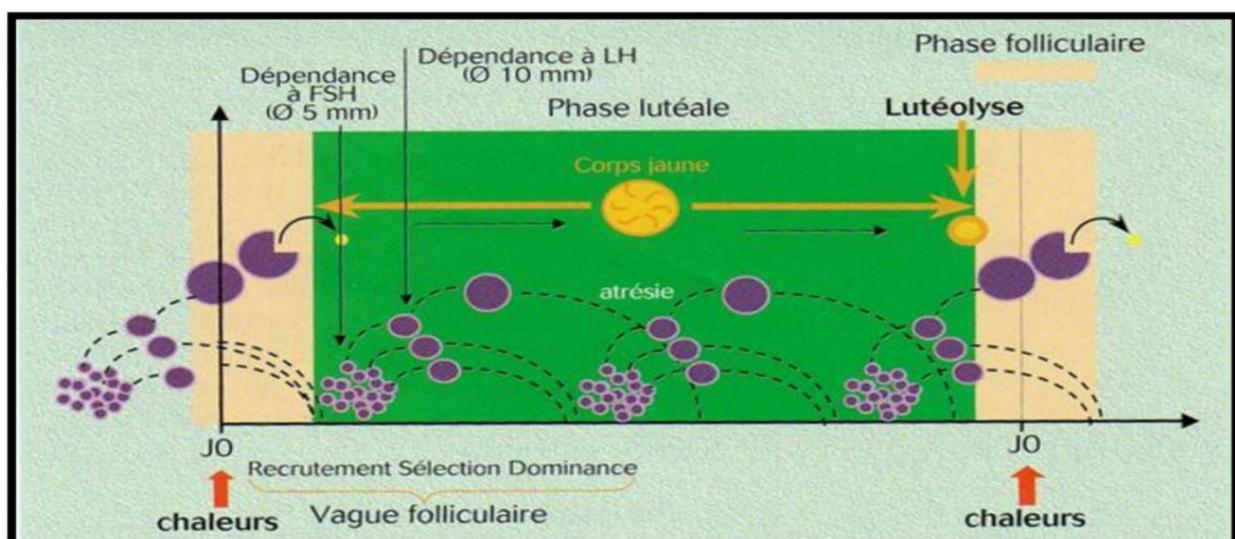
### Notion de vagues folliculaires

Dans l'espèce bovine, la croissance terminale des follicules s'effectue sous forme de vagues (Mihm et al, 2002 ; Evans, 2003).

Au sein de chaque cycle œstral se succèdent entre 2 et 4 vagues de follicules. En général, ce nombre est de 3. Chaque vague correspond à une cohorte de follicules qui ont atteint la taille minimale et qui sont recrutés sous l'effet de la FSH (Forde et al, 2011 ; Aerts et al, 2010).

Lors des premières vagues d'un cycle, le follicule dominant se trouve dans un climat d'imprégnation progestéronique. En effet, le corps jaune issu du cycle œstral précédent est toujours en place et il sécrète de la progestérone. Celle-ci exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, ce qui entraîne une atresie de ce follicule dominant et donc le recrutement d'une nouvelle vague de follicules (Chastant-Maillard et al, 2005).

En l'absence de corps jaune, c'est-à-dire après la lutéolyse, la progestéronémie est basse. A l'inverse, la concentration en œstrogènes est élevée en raison de leur synthèse par les follicules. Ce climat hormonal exerce un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamohypophysaire. Un pic de LH est libéré et permet l'ovulation du follicule dominant (Adams et al, 2008 ; Aerts et al, 2010). La figure n° 13 résume la succession des vagues folliculaires au cours d'un cycle :



**Figure n° 13:** Schéma des vagues folliculaires chez la vache (d'après Chastant-Maillard et al, 2005).

Dans ce schéma, 3 follicules sont sélectionnés. Cette hypothèse est actuellement contestée et il semblerait plutôt qu'un seul follicule soit sélectionné à chaque vague folliculaire.

L'ovogenèse et la folliculogénèse sont donc finalement deux processus intimement liés qui aboutissent, dans de rares cas, à l'ovulation.

### **III.3. La puberté**

La puberté marque l'acquisition de la fonction de reproduction. Dès le début de la vie de l'individu, des follicules primordiaux entrent régulièrement en croissance. Ils se développent jusqu'au stade de follicule antral puis évoluent inexorablement vers l'atrésie en raison de l'absence d'hormones gonadotropes (McGee et al, 2000).

La puberté marque alors un changement important. En effet, la production d'hormones telles que la LH, la FSH et l'œstradiol augmente significativement, permettant ainsi à certains follicules d'échapper à l'atrésie et de poursuivre leur maturation jusqu'au stade de follicule de De Graaf et à l'ovulation (Gasser, 2013).

Dans l'espèce bovine, la puberté apparaît généralement entre 10 et 15 mois. Cet âge à la puberté varie en fonction de nombreux facteurs : poids, alimentation, race, saison, génétique etc... (Hafez et al, 2000) Plus que le poids ou l'âge, il semble que ce soit la proportion du poids adulte qui prédise le mieux la puberté (Freetly et al, 2011).

Ainsi, l'animal atteint généralement la puberté lorsqu'il pèse environ 60% de son poids adulte.

### **III.4. Le cycle ovarien**

Chez la vache, les cycles ovariens se succèdent en continu et l'ovulation se produit à chacun des cycles.

A la différence des petits Ruminants (chèvre, brebis), la reproduction de la vache n'est pas saisonnière. On qualifie donc la vache d'espèce polyoestrienne continue à ovulation spontanée (Norris et al, 2010).

Le cycle œstral a généralement, chez la vache, une durée de 21 jours. Mais il peut varier entre 18 et 24 jours (Gordon, 1996). Le point de départ du cycle (J0) coïncide avec l'œstrus.

### **a) Les phases du cycle œstral**

Le cycle œstral se divise en quatre phases successives : proestrus, œstrus, metoestrus et dioestrus, que l'on regroupe habituellement chez la vache en phase folliculaire et en phase lutéale.

#### **a.1. Phase folliculaire**

La phase folliculaire correspond au développement folliculaire aboutissant au follicule ovulatoire puis à l'expulsion de l'ovocyte dans le tractus génital. Elle regroupe les phases de proestrus et d'œstrus.

Le proestrus prend place de J19 à J21 et correspond à la préparation de l'œstrus suivant. Le corps jaune ayant été lysé, la progestéronémie est basse. A l'inverse, la production d'oestradiol par les follicules augmente (Schatten et al, 2007).

Un nouveau follicule dominant émerge parmi les follicules recrutés et termine sa croissance jusqu'au stade de follicule de De Graaf sous l'influence des hormones gonadotropes.

L'œstrus correspond à la période de chaleurs et sert de point de départ du cycle (J0). Sa durée est de 17h en moyenne chez la vache laitière (Schatten et al, 2007 ; Ball et al, 2008), avec une tendance à la diminution depuis quelques années (Dobson et al, 2008 ; Sveberg et al, 2015).

Le follicule dominant s'apprête à ovuler, la concentration en œstrogènes est maximale. Cette forte imprégnation oestrogénique, couplée à l'absence de progestérone, induit au niveau central l'expression comportementale des chaleurs. L'œstrus est ainsi la seule période au cours de laquelle la vache fait preuve de réceptivité sexuelle.

#### **a.2. Ovulation**

L'ovulation marque la transition entre les phases folliculaire et lutéale. Elle a lieu 24 à 30 heures après le début de l'œstrus.

En fin de phase folliculaire, le follicule de De Graaf, sécrète une quantité croissante d'oestradiol. A l'inverse, la progestéronémie est relativement basse. Ce climat hormonal particulier est à l'origine d'une augmentation de la fréquence des pulses de GnRH,

et donc d'un pic de LH. Ce pic pré-ovulatoire de LH déclenchera l'ovulation dans un délai de 28h en moyenne chez la vache (Norris et al, 2010 ; Saint-Dizier et al, 2014).

### **a.3. Phase lutéale**

La phase lutéale correspond à la période de présence d'un corps jaune, c'est-à-dire au metoestrus et au dioestrus.

#### ➤ **Metoestrus**

Le metoestrus succède à l'œstrus et correspond à la période de J1 à J3. Le follicule de De Graaf a terminé sa maturation et a ovulé. A la suite de cette ovulation, du sang s'accumule dans la cavité folliculaire, on parle alors de corps hémorragique. Les cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule, sous l'influence de la LH, évoluent alors en cellules lutéales qui sécrèteront de la progestérone. Le follicule a évolué en corps jaune (Ball et al, 2008).

Sur le plan hormonal, la concentration sanguine en œstradiol va donc diminuer alors que la progestéronémie va, à l'inverse, augmenter.

#### ➤ **Dioestrus**

Le metoestrus est suivi par le dioestrus, qui est la phase la plus longue du cycle, de J4 à J18. Le corps jaune présent sur l'un des ovaires se maintient et assure une production maximale en progestérone (Schatten et al, 2007).

Cette progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamohypophysaire, empêchant toute nouvelle ovulation.

La lutéolyse marquera la fin du dioestrus et de la phase lutéale, autorisant la survenue d'un nouveau cycle.

#### ➤ **Lutéolyse**

Cette étape correspond, en l'absence de gestation, à la dégénérescence du corps jaune cyclique. L'atrophie du corps jaune aboutit à la formation d'une structure appelée corpus albicans. C'est la lutéolyse anatomique. Sur le plan hormonal, la régression du corps jaune entraîne une chute de la progestéronémie. On parle de lutéolyse fonctionnelle.

La lutéolyse est un processus provoqué par la prostaglandine  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ). Cette  $PGF2\alpha$ , produite par l'endomètre, provoque la lyse du corps jaune (Goff, 2004).

Au niveau des cellules épithéliales de l'endomètre se trouvent des récepteurs à l'ocytocine dont l'effet est de stimuler la sécrétion de cette  $PGF2\alpha$ . Au début de la phase lutéale, la progestérone, en concentration très élevée, inhibe l'expression de ces récepteurs endométriaux à l'ocytocine (McCracken et al, 1999).

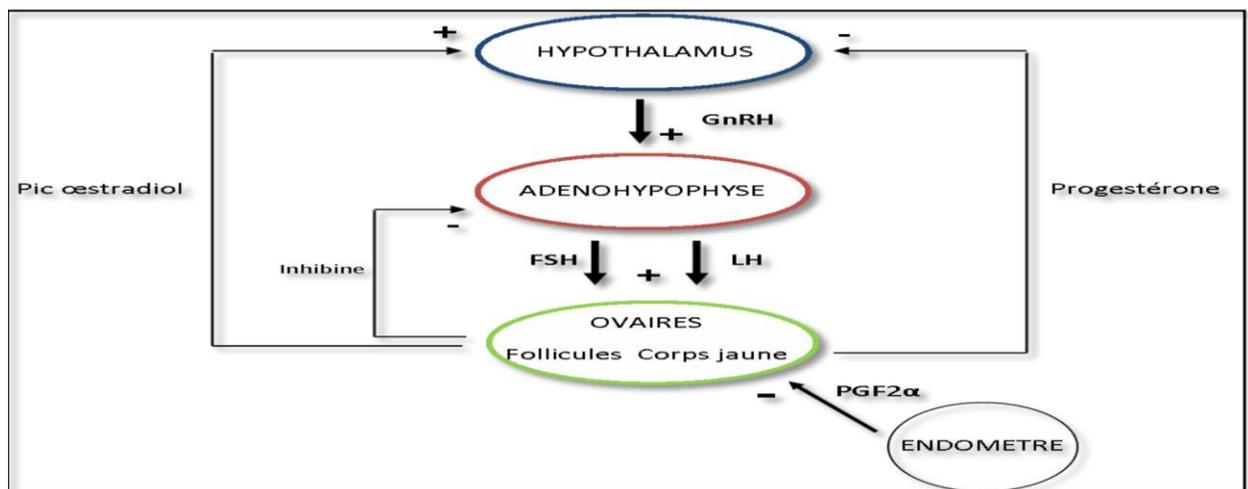
Cependant, cet effet inhibiteur est de plus en plus faible à mesure que le cycle œstral avance, c'est-à-dire qu'il y a une désensibilisation à l'inhibition par la progestérone (Braun et al, 1988). En parallèle, l'œstradiol folliculaire a lui un effet stimulateur sur l'expression des récepteurs à l'ocytocine. En conséquence, le nombre de récepteurs endométriaux à l'ocytocine augmente entre J15 et J17 et des pulses de  $PGF2\alpha$  apparaissent. Cette  $PGF2\alpha$  exerce alors un rétrocontrôle positif sur la synthèse d'ocytocine par le corps jaune, permettant une amplification du processus jusqu'à la lyse complète du corps jaune (Goff, 2004).

Néanmoins, il est important de noter que le corps jaune demeure réfractaire aux prostaglandines pendant 5 à 7 jours après sa formation (Tsai et al, 1998 ; Levy et al, 2000 ; Braun et al, 1988).

En cas de gestation, le corps jaune qui se maintient est qualifié de corps jaune de gestation. L'embryon lui-même est à l'origine de cette reconnaissance maternelle de la gestation. En effet, dès le 16ème jour de gestation, l'embryon sécrète de l'interféron tau ( $IFN \tau$ ) qui inhibe les récepteurs endométriaux à l'ocytocine, ce qui se traduit par un effet antilutéolytique (Martal et al, 1979 ; Dorniak et al, 2013).

### **b) Bilan : la régulation du cycle œstral**

L'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique est donc l'élément central de la régulation hormonale de la reproduction (Figure n° 14). La compréhension de son fonctionnement nous permet de mettre en place, le cas échéant, la thérapeutique hormonale utile au contrôle de la reproduction.



**Figure n° 14:** Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle œstral.

### c) Maintien de la gestation

La progestérone est absolument nécessaire au maintien de la gestation dans toutes les espèces de mammifères pourvues d'un placenta. Cependant, le contrôle de sa sécrétion par le corps jaune pendant la période embryonnaire est différente selon les espèces. Dans les espèces animales au contraire, le maintien du corps jaune résulte d'un blocage de l'activité lutéolytique de la prostaglandine F2 alpha (PGF2a). De nombreuses études ont permis de préciser le rôle respectif des hormones impliquées et en particulier celui plus essentiel tenu par la trophoblastine. Celle-ci, encore appelée selon les espèces, ovine ou bovine trophoblastine de type 1 (oTP1 et bTP1) ou par analogie structurelle interféron tau est secrété par le blastocyste et sa présence a été identifiée dans l'endomètre.

Ils induiraient en synergie avec la prolactine une synthèse de prostaglandines en direction de la lumière utérine et non pas vers la veine utérine.

La diminution du nombre de récepteurs à l'ocytocine et aux oestrogènes ainsi que la réduction de la synthèse de la prostaglandine F2 alpha constitue les principaux changements observés lors de gestation. L'interféron tau a été impliqué dans ce double mécanisme du maintien de la gestation. Il prolongerait l'effet inhibiteur exercé par la progestérone sur la synthèse de récepteurs à l'ocytocine. De même, il contribuerait à diminuer l'amplitude et la pulsativité de la PF2a en stimulant la synthèse par l'endomètre d'un inhibiteur de la prostaglandine synthétase, l'EPSI (Endometrial Prostaglandin Synthetase Inhibitor) (Hanzen, 2010).

On conclusion le processus de la reproduction est un phénomène physiologique complexe. Quelle que soit l'espèce la connaissance de l'anatomie de l'appareil génital est indispensable pour réaliser certaines intervention dans de parfaite conditions (Insémination Artificielle, transplantation embryonnaire...), mais aussi à la mise bas et aux traitements qui peuvent en découler métrites, endométrites...).

Dans ce chapitre on a parlé et clarifier les différentes sections du tractus génital de la vache et la physiologie de leur sexualité. On ne peut pas parler sur cet appareil sans jetez un œil sur les importantes infections utérine comme l'endométrite et les différentes techniques de diagnostique; **qu'est ce qu'une endométrite et quelles sont les différentes techniques de diagnostique chez la vache?**.

De nombreuses techniques peuvent être employées pour diagnostiquer les endométrites de la vache et d'autres mammifères. Il faut cependant mettre en relation la faisabilité de chaque méthode sur le terrain, le coût et la technicité nécessaires à leur mise en œuvre ainsi que la valeur diagnostique. Actuellement, cette caractérisation peut être effectuée grâce à des examens utérins, vaginaux et sanguins.

Ce chapitre va aider à donner une vue générale sur les endométrites et leur diagnostic et a la méthode de référence pour diagnostiquer ces dernière ; quelle sont les formes d'endométrites chez la vache, **quel sont les examens pour les diagnostiquer et quel est la méthode de référence ?**

### **I. Les endométrites chez la vache**

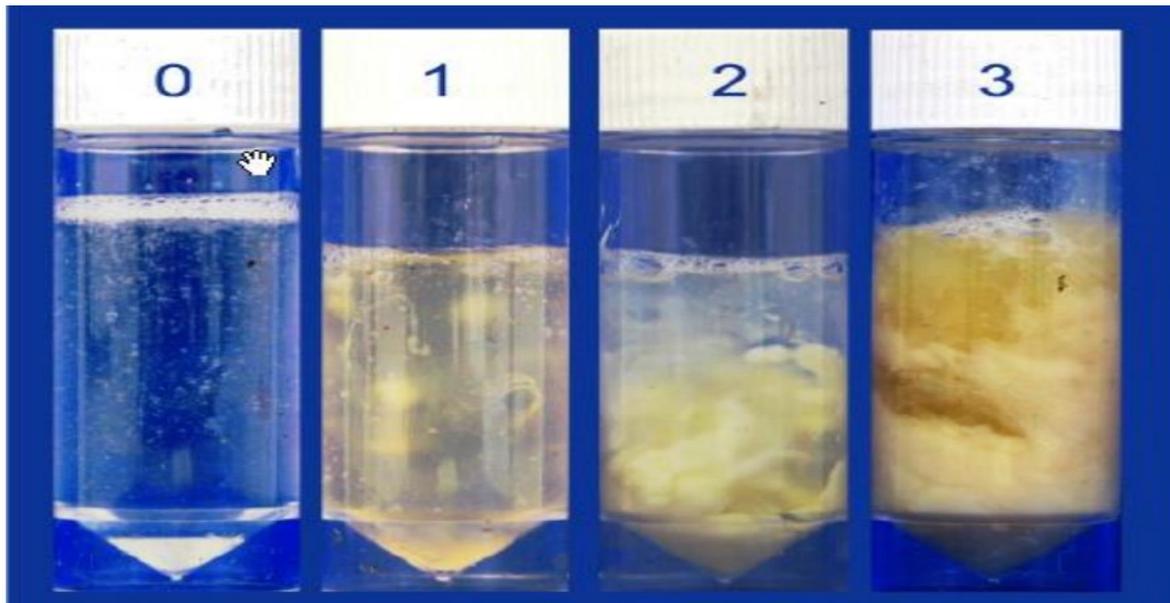
Les endométrites sont un problème majeur chez la vache,leur survenue étant à l'origine d'une diminution des performances de reproduction et pertes de économiques pour l'élevage(Ahmadi et al;2006 et 2009).Ce sont des inflammations de la muqueuses utérines qui apparaissent après 21jours post-partum et sont souvent citées comme cause du syndrome repeat-breeding qui concerne les vache non gestantes après trois inséminations ou plus et avec des chaleurs normale(Ferreira et al;2002).

On distingue des formes cliniques et des formes subcliniques. Une endométrite clinique se caractérise par la présence d'écoulements purulents ou mucopurulents dans le vagin, à partir de 21 jours post-partum et sans signes systémiques. Une endométrite subclinique est définie comme une inflammation superficielle de la muqueuse utérine au-delà de 21 jours post-partum. Les recherches menées au cours des dernières années montrent que ces deux conditions ont un impact négatif considérable sur la performance subséquente en reproduction des vaches atteintes, ainsi ces maladies peuvent donc avoir un impact économique négatif important pour le troupeau.

#### **a) L'endométrite clinique**

Ce type d'infection utérine se caractérise par l'absence habituelle de symptômes généraux (Leblanc et al. 2002, Sheldon et Noakes 1998). Elle se détecte au-delà des trois premières semaines du postpartum. L'involution utérine et cervicale est ou non complète. Ce type d'infection s'accompagne d'écoulements purulents, mucopurulents ou de flocons de pus voire

de mucus trouble (Figure n°15). L'inflammation se caractérise par un œdème, une congestion de la muqueuse utérine et une importante infiltration leucocytaire. Une corrélation significative a été démontrée entre le grade de l'endométrite clinique et l'identification dans l'écoulement de germes pathogènes (Figure n°16). Sur une coupe anatomopathologique, on peut observer des zones de desquamation avec atteinte dégénérative des zones glandulaires, une infiltration de l'épithélium superficiel, une dilatation ou une hypoplasie des glandes et de la fibrose périglandulaire. Ce type d'infection fait ou non suite à une endométrite puerpérale.

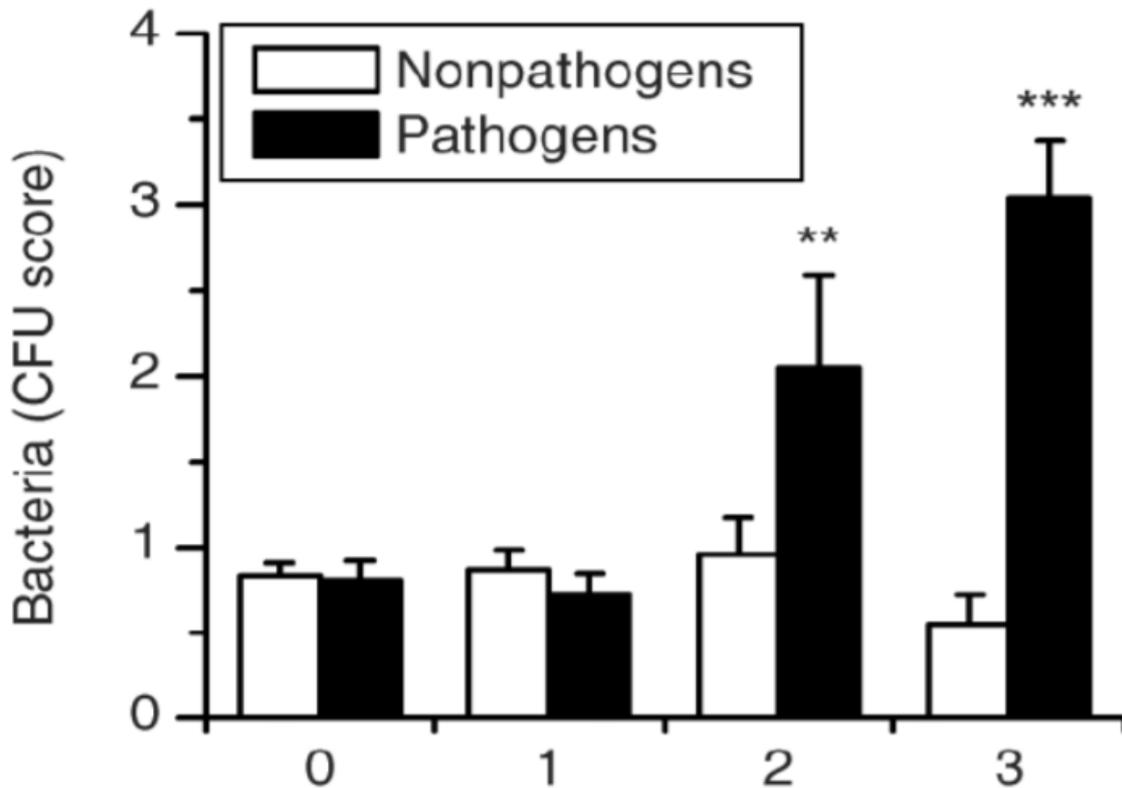


**Grade1:**Flocons de pus

**Grade2:**Écoulement muco-purulent(moins de 50% de pus dans l'écoulement)

**Grade3:**Écoulement renfermant > 50 % de pus

**Figure n°15:**Classification des endométrites cliniques (Sheldon et al. 2009).



**Figure n°16:** Relation entre le degré d'endométrite clinique et la présence de germes pathogènes (Shledon et al. 2009)

L'absence de manifestations générales implique pour le diagnostic le recours à des méthodes telles la palpation manuelle du tractus génital (Studer et Morrow 1978), l'examen vaginal (LeBlanc et al. 2002, Miller et al. 1980), l'examen bactériologique d'un prélèvement utérin (Bretzlaff 1987), l'examen anatomopathologique d'une biopsie utérine (Bonnett et al. 1991a, 1991b, 1991c) ou l'examen cytologique d'un prélèvement utérin (Gilbert et al. 1998).

L'impact possible des endométrites cliniques sur le risque d'apparition de kystes ovariens a été observé dans la cadre d'une étude épidémiologique (Grohn et al. 1990). De même, la présence de lésions endométriales d'origine bactérienne (Peter et al. 1990) peut également être responsable d'un raccourcissement du cycle, phénomène imputé à une libération prématurée de prostaglandines au cours du cycle (Peter et Bosu 1987) sous l'effet des endotoxines bactériennes (Biberstein 1990). Cette synthèse de prostaglandines peut également entraîner une dépression temporaire de la synthèse de progestérone suffisante pour induire dans certains cas une mortalité embryonnaire précoce ou tardive voire un avortement (Figure n°17,18,19,20).



**Figure n°17** :Ecoulement trouble(Hanzen,2009).



**Figure n°18** :Ecoulement mucopurulent(Hanzen,2009).



Figure n °19: Ecoulement purulent(Hanzen,2009).



Figure n°20 :Ecoulement purulent(Chakri,2009).

**b) L'endométrite subclinique**

L'endométrite subclinique se traduit par la présence d'un état inflammatoire de l'endomètre en l'absence de sécrétions anormales dans le vagin. Elle apparaît après l'involution histologique complète de l'utérus. Elle se traduit par une quantité minimale voire une absence d'exsudat dans la cavité utérine. L'état inflammatoire de l'endomètre n'est pas macroscopiquement décelable. Il implique le recours à un examen complémentaire visant à déterminer la quantité de neutrophiles dans la cavité utérine. Le pourcentage de neutrophiles serait supérieur respectivement à 18 %, 10 %, 8 % et 5 % selon que les prélèvements utérins ont été réalisés 21 à 33, 34 à 47, 28 à 41 ou 40 à 60 jours post-partum. Ce type d'infection se traduit par une diminution des performances de reproduction des vaches (Sheldon et al. 2006, Kasamanickam et al. 2004, Gilbert et al. 2005, Foldi et al. 2006, Parlevliet et al. 2006). En l'absence de traitement, la présence d'une endométrite identifiée entre le 28ème et le 40ème jour du post-partum sur base d'un examen cytologique au moyen d'une cytobrosse, se traduit par une augmentation de 25 jours de l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante, la période d'attente étant comparable. Elle s'accompagne d'une diminution de 17,9 % du taux de gestation (Barlund et al. 2008).

**I.1. Cas du pyometre**

Le pyometre correspond à l'accumulation de pus dans la cavité utérine. Cette accumulation est le plus souvent associée à un corps jaune fonctionnel et, en conséquence, à une fermeture complète ou partielle du col utérin. Elle apparaît habituellement après la première ovulation. L'utérus se distend de plus en plus de façon uni ou bilatérale. L'écoulement purulent est plus ou moins permanent selon le degré d'ouverture du col. L'animal présente de l'anoestrus. L'épithélium et les glandes sont fibroses. Dans de plus rares cas, le pyomètre peut s'accompagner de répercussions sur l'état général (amaigrissement, péritonite...) (Noakes et al, 1990 ; Foldi et al, 2006 ; Bondurant, 1999 ; Sheldon et Dobson, 2004 ; Sheldon et al, 2006).(Figure n°21).



**Figure n°21:**Pyomètre chez une vache (Hanzen, 2009).

## II. La réalisation de la biopsie utérine

### A. Les premières biopsies utérines en médecine vétérinaire

Les biopsies endométriales ont été initialement réalisées chez des juments en 1960 pour évaluer leur fertilité (Brandt et Manning, 1969 cités par Chapwanya et al, 2010). Bien que cette technique ait révolutionné la gestion de la reproduction équine et qu'elle soit mise en œuvre en routine avant la mise à la reproduction dans cette espèce (Noakes et al, 2009), elle n'a pas cependant obtenu un aussi grand développement dans d'autres espèces (Bretzlaff, 1987 ; Chapwanya et al, 2010). La première biopsie utérine réalisée chez la vache le fût dès 1948 (Manspeaker et al, 1984), mais elle n'est pas devenue un outil de routine d'évaluation de la santé utérine dans cette espèce (De Bois et Manspeaker, 1986).

En effet, la biopsie utérine a été réalisée chez les vaches cyclées pour des raisons expérimentales (Mann et Lamming, 1994) mais elle n'a pas été utilisée pour étudier les modifications endométriales du post-partum précoce au cours de l'involution (Chapwanya et al, 2010). L'utilisation de la biopsie a été limitée chez les bovins car les travaux anciens suggéraient qu'elle pouvait altérer la fertilité de ces vaches en provoquant des affections utérines (Zaayer et Van der Horst, 1986) (voir III-c).

Peu d'études sont référencées quant aux lésions d'endométrite chez la truie et la brebis. En effet, l'engouement des auteurs pour ce sujet en bovine, équine, canine s'explique par un objectif d'amélioration de la fertilité. De par la prolificité de la truie et de la brebis et de

l'approche collective de ces troupeaux, les éleveurs sont très peu confrontés à une baisse de fertilité, et donc la recherche des facteurs la pénalisant sont moins étudiés.

Néanmoins, l'histologie endométriale a été réalisée chez la brebis pour la description du processus d'involution utérine (Van Wyk et al, 1972 ; Grey et al, 2003).

### **B. 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 (Chapwanya et al, 2010) 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 (De Bois et Manspeaker, 1986).

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 (De Bois et Manspeaker, 1986). En effet, ces derniers rapportent qu'on peut retrouver des degrés de fibrose différents de façon simultanée sur un utérus donné. Mais Bonnet et al (1991b) supposent quant à eux qu'un seul échantillon est représentatif de la totalité de l'utérus. 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 (Waelchli et Winder, 1989 ; Overbeck et al, 2011 ; Overbeck et al, 2013). Overbeck et al (2013) ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative en ce qui concerne l'endométriase et les lésions d'angiosclérose selon la localisation dans 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 (Greenhoff et Kenney, 1975 ; Doig et Kenney, 1986). 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, Gross et LeBlanc (1984) et Fiala et al (2010) ont eux démontré qu'une seule biopsie n'était pas

suffisante. 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 les quelles 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 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.

### **III. L'analyse histologique de la biopsie utérine dans la recherche d'endométrite**

#### **III .A.L'intérêt de l'histologie chez la vache**

L'examen de l'utérus après vêlage chez la vache, 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).

#### **III.B. Modifications au cours de l'involution utérine chez la vache.**

Chez la vache, après la mise-bas, l'endomètre subit d'importants remaniements histologiques. Alors que l'utérus a retrouvé sa taille pré-gravidique entre 20 et 40 jours postpartum (l'involution anatomique du col est plus longue : elle s'achève entre 50 et 60 jours post-partum), il faut encore une vingtaine de jours avant que le statut histologique ne redevienne à son tour normal.

L'involution histologique de l'endomètre n'est complète que vers 50 à 65 jours post-partum (Gier et Marion, 1968). Immédiatement après le vêlage, une dégénérescence tissulaire et une nécrose de la partie superficielle des cryptes se propagent à toute la masse caronculaire. Ces

changements dégénératifs facilitent la dissociation entre la caroncule et la houppe chorale. Vers le 10<sup>ème</sup> jour post-partum, lorsque le col s'ouvre de nouveau, la partie superficielle des caroncules desquame et est éliminée. Ensuite, les artérioles qui alimentaient ces caroncules vont dégénérer.

Cette dégénérescence se traduit par la formation de disques blancs au sein d'un endomètre rosé. Alors que l'épithélium gestatif disparaît, un nouvel épithélium apparaît, en se développant au-dessus des vestiges des caroncules. L'endomètre se régénère immédiatement après le part à partir des zones intercotylédonnaires et de l'épithélium des glandes utérines.

La période post-partum se caractérise également par l'afflux de neutrophiles dans la lumière utérine (diapédèse), conséquence d'une contamination de l'endomètre au moment du vêlage. Les neutrophiles sont mobilisés par l'intermédiaire des cytokines libérées par l'endomètre sous l'effet de la contamination bactérienne.

#### ❖ **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% (Chaffaux et al, 1987 ; Chapwanya et al, 2010). 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 (Chapwanya et al, 2010).

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.

❖ **Les lésions d'endomérite :**

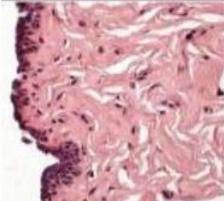
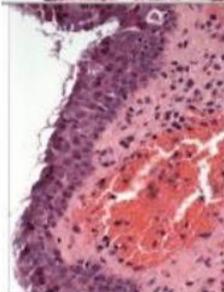
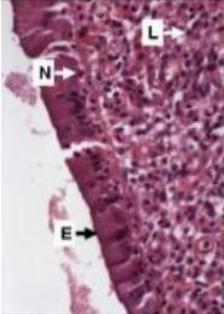
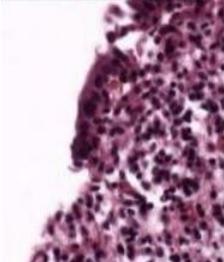
Quatre composantes sont à prendre en compte pour évaluer correctement un échantillon endométrial : être certain qu'il y ait suffisamment de tissu (plus d'un centimètre de tissu en longueur), évaluer histologiquement le stade œstral, évaluer une réponse inflammatoire, ainsi que le degré et l'étendue des modifications dégénératives (fibrose, lacunes lymphatiques, glandes kystiques) (Kenney et Doig, 1986).

En effet, les résultats histologiques doivent être interprétés en étant conscient des modifications saisonnières de l'endomètre et de l'historique de l'animal.

Chez la vache, plusieurs auteurs ont proposé une description et une classification des lésions endométriales (Gonzalez et al, 1985 ; Chaffaux et al, 1987 ; Mc Dougall, 2005 ; Chapwanya et al, 2009).(Tableau 1 et 2).

	Critères	Score
<b>Epithélium luminal</b>	- Absent	0
	- Normal	1
	- Infiltré	2
	- Partiellement ou totalement détruit	3
<b>Morphologie glandulaire</b>	- 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
<b>Fibrose glandulaire</b>	- 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
<b>Infiltration cellulaire</b>	- Infiltration mononucléée	
	- Absente	0
	- Modérée	1
	- Forte	2
	- Infiltration polynucléée	
	- Absente	0
- Modérée	1	
- Forte	2	
<b>Nodules lymphoïdes</b>	- Présents	1
	- Absents	0

**Tableau n°1:**Classification des lésions d'endométrites chez la vache selon 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 n°2:** Gradation du degré d'inflammation dans l'endométrite chez la vache (Chapwanya et al, 2009).

N: neutrophiles, L: lymphocyte

En bilan, l'endométrite se caractérise histologiquement par une infiltration inflammatoire de l'endomètre, une altération de l'épithélium (desquamation voire une nécrose), la présence de plasmocytes et une accumulation locale de lymphocytes au niveau des stratum compactum et spongiosum, des modifications glandulaires, une congestion et un œdème du stroma.

## IV. Méthodes de diagnostic

### IV.1. Anamnèse

L'identification des commémoratifs cliniques connus pour favoriser l'apparition d'une endométrite (date du vêlage, numéro de lactation, type de vêlage, gémeité, cétose, fièvre vitulaire, nature des complications du vêlage telles la rétention placentaire, l'endométrite puerpérale, la gémeité) permet d'identifier les animaux à risque. Spécifique (90 %), la méthode est cependant peu sensible (37 %) et a donc une faible valeur diagnostique (Leblanc et al. 2002). Néanmoins, il est intéressant de les prendre en compte dans le cadre des protocoles expérimentaux relatifs au post-partum (Opsomer et al. 2000, Leblanc et al. 2002, Kasimanickam et al. 2005).

### IV.2 L'examen général

Au nombre des paramètres classiques de l'examen général (fréquences respiratoire et cardiaque, examen des muqueuses, évaluation du comportement, appétit, présence de boiteries, santé mammaire, état corporel, présence d'écoulements anormaux ...) (Urton et al. 2005, Huzzey et al. 2006), la prise de la température corporelle semblerait revêtir un intérêt particulier (Scott et al. 2006). En effet, la présence de fièvre dans les deux semaines qui suivent le vêlage peut faire suite à une infection intra-utérine mais ne constitue pas un indicateur suffisant de cette dernière en l'absence d'autres signes cliniques. L'enregistrement des températures pendant 10 jours consécutifs après le vêlage n'a pas permis de mettre en évidence une association entre la présence de fièvre (température  $>39.7^{\circ}\text{C}$ ) et la charge bactérienne intra-utérine, ou la présence de pathogènes spécifiques, excepté peut-être *Prevotella* spp. (Sledon et al. 2004). De même, en présence de sécrétions utérines caractéristiques d'une métrite aiguë, la présence de fièvre n'est pas un élément fréquent. Lors d'enquêtes terrain (Carlos de Sa Intervet communication personnelle 2004), sur des vaches avec endométrite aiguë, seules 12% des vaches (n=206) présentant des signes cliniques (pertes liquides sanieuses et malodorantes) avaient une température supérieure ou égale à  $39.5^{\circ}\text{C}$ . D'un suivi de la température corporelle de 1042 vaches laitières durant le post-partum mis en place pour identifier les animaux à problèmes, il résulte les recommandations suivantes (1) prise de température journalière pendant au moins 7 jours, (2) en cas de dépassement du seuil de  $39.1^{\circ}\text{C}$  par une primipare ou une multipare, faire procéder à l'examen clinique de l'animal, (3) ne recourir à une antibiothérapie systématique que si une

hyperthermie supérieure à 39,4°C voire 39,7°C est observée pendant deux jours consécutifs (Kristula et al. 2001).

### IV.3. La palpation rectale

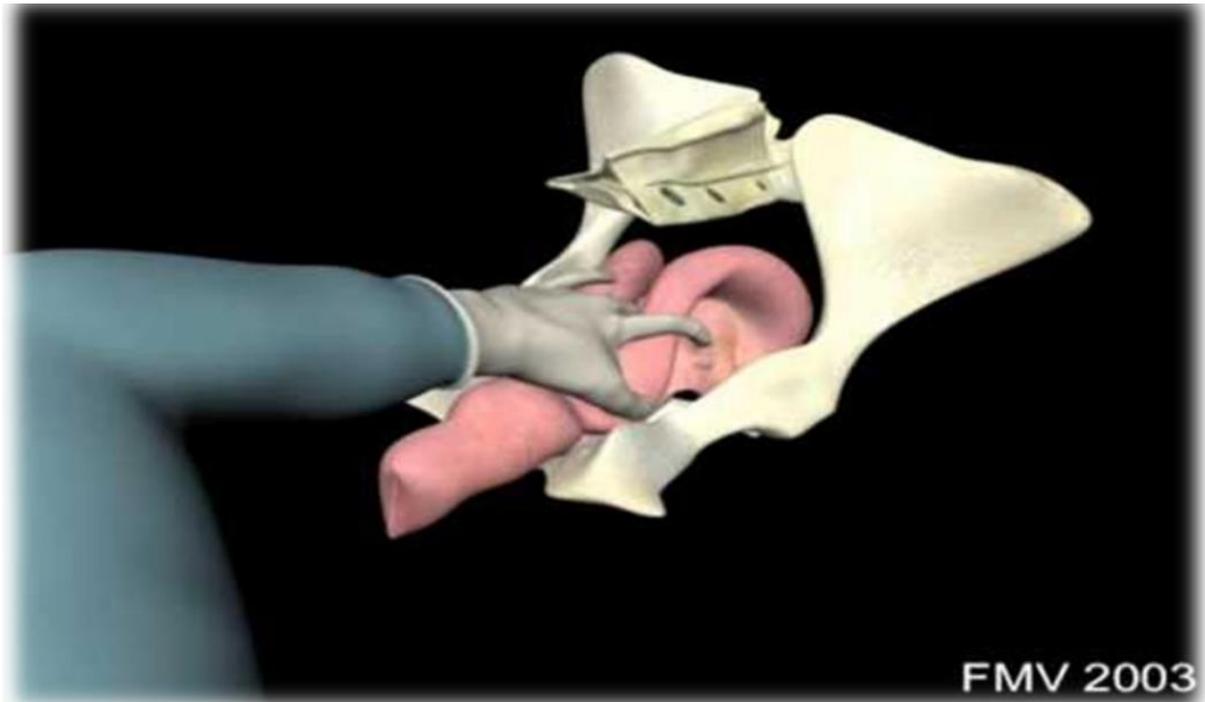
Economique d'emploi, la palpation rectale est une des méthodes les plus utilisées en pratique. Néanmoins sa capacité diagnostique est étroitement liée à son usage régulier (Lewis 1997). Etant donné les variations individuelles liées à l'involution utérine, la détermination précise de la taille, symétrie et consistance des cornes utérines, paramètres classiquement identifiés lors de la palpation du tractus génital n'est pas chose aisée. En ce qui concerne le diamètre des cornes, nous avons pour habitude de distinguer trois classes de diamètre distinguées (< 5 cm, 5 à 10 cm et > 10 cm). En ce qui concerne la consistance des cornes, nous distinguons une consistance, flaccide, ferme et tonique. La consistance des cornes peut dépendre de la présence ou non d'un contenu liquidien, d'un état inflammatoire mais bien entendu également de la présence de l'une ou l'autre structure ovarienne normale ou pathologique. Ainsi, en cas de pyomètre l'utérus est distendu et un corps jaune serait palpé dans 96 % des cas (Fazeli et al. 1980, Jackson 1977). La palpation des cornes utérines offre l'avantage outre de sa capacité à, juger de l'involution anatomique de l'utérus, de pouvoir induire l'apparition d'un écoulement vaginal voire vulvaire un écoulement. Certains auteurs ont décrit une consistance tubulaire palpable ou la paroi interne de la corne serait identifiable par palpation : ils parlent de lumière utérine palpable (Stevens et al. 1995).

La palpation manuelle des cornes utérines en vue d'évaluer leur diamètre ou leur consistance n'est pas suffisante pour poser avec certitude un diagnostic d'endométrite chronique (Foldi et al. 2006, Sheldon et al. 2006). Cette méthode manque d'exactitude quand il s'agit d'identifier les vaches présentant de l'infertilité due à une endométrite (Miller et al. 1980, Kristula et Bartholomew 1998). Très pratique au demeurant, elle s'avère la moins sensible et la moins spécifique des méthodes possibles (Bretzlaff 1987, Gilbert 1992, Youngquist et Shore 1997, Deguillaume 2007). Ainsi, la corrélation entre le diamètre des cornes utérines et l'identification bactériologique serait comprise entre 0,17 pour la corne gauche et 0,22 pour la corne droite (Studer et Morrow 1978). De même, sur la base de 157 diagnostics d'endométrite chronique posés par palpation manuelle, un isolement bactérien n'a été posé que dans 22 % des cas dans le liquide de lavage utérin (Youngquist et Shore 1997).

Référence faite au statut de gestation identifié à 120 jours post-partum, il s'avère que le diagnostic manuel d'une endométrite sur base d'un col de diamètre supérieur à 7,5 cm ou

d'une augmentation du diamètre des cornes déterminés respectivement 20 à 33 jours et 26 à 40 jours post-partum, est une méthode peu sensible (0,17 à 0,21) mais très spécifique (0,88 à 1). Deguillaume dans une étude plus récente arrive aux mêmes conclusions (Deguillaume 2007). Son association à la vaginoscopie ne contribue pas à améliorer les résultats (Leblanc et al. 2002, Bonnett et al. 1993).

D'autres auteurs ont proposé d'autres méthodes de caractérisation des infections utérines. Deux publications ont fait état d'évaluations plus précises. Ainsi, Scholten et al. (1991) caractérisent l'endométrite aiguë par la présence de l'un ou de plusieurs symptômes généraux suivants : température rectale  $> 39.5^{\circ}\text{C}$ , fréquence cardiaque  $> 90 / \text{min}$ , contractions du rumen  $< 5/5'$  et diminution d'appétit. Par ailleurs, ces auteurs définissent un score utérin (0 à 4) en se basant sur la présence (1) ou l'absence (0) des 4 symptômes locaux suivants : taille de l'utérus (normal ou anormal), consistance utérine (normale ou augmentée), absence d'air ou de gaz, présence ou absence d'un écoulement anormal. En cas d'endométrite chronique, Murray et al. (1990) combine l'évaluation de l'état corporel (bon : 0, faible : 1), la présence et la nature d'un écoulement vaginal (malodorant : 3, sans odeur : 0, sanguinolent : 3, purulent: 2, floconneux: 1) et la taille et la position du tractus génital (élargi, à paroi épaisse, plongeant dans la cavité abdominale ou non palpable: 3, large, épaissi mais palpable: 2, présent entièrement dans la cavité pelvienne avec une légère asymétrie des cornes : 0). Selon la valeur du score ainsi établi, trois catégories sont distinguées : endométrite sévère (7 à 10), moyenne (3 à 6) ou légère (0 à 2). Ce genre d'évaluations contribuerait à réduire la part de subjectivité du diagnostic et faciliterait la comparaison entre animaux ou entre examens chez le même animal.



**Figure n° 22:**Fouiller rectale chez une vache-Animation 3D(Harvey et vaillancourt,2003).

Auteurs	Critère de détection
<i>LeBlanc et ses collaborateurs, (2002).</i>	Diamètre du col > 7,5 cm.
<i>Mejia et Lacau- Mengido, (2005)</i>	La taille d'une des cornes 1,5 à 2 fois supérieure à l'autre.
<i>Coche et ses collaborateurs, (1987).</i>	Cornes identiques, ou presque, de diamètre de 4 cm environ, à paroi ferme, sans adhérence, à lumière imperceptible, sans flot liquidien, ni caroncule.

**Tableau n°3:**Critères de diagnostic des endométrites par palpation transrectale.

#### IV.4. L'examen vaginal

Cet examen est complémentaire à l'inspection visuelle de la région vulvaire et à la palpation manuelle du tractus génital qu'il doit par ailleurs suivre et non pas précéder, cette palpation étant de nature à extérioriser un éventuel contenu anormal.

##### IV.4.1 Méthodes d'examen vaginal

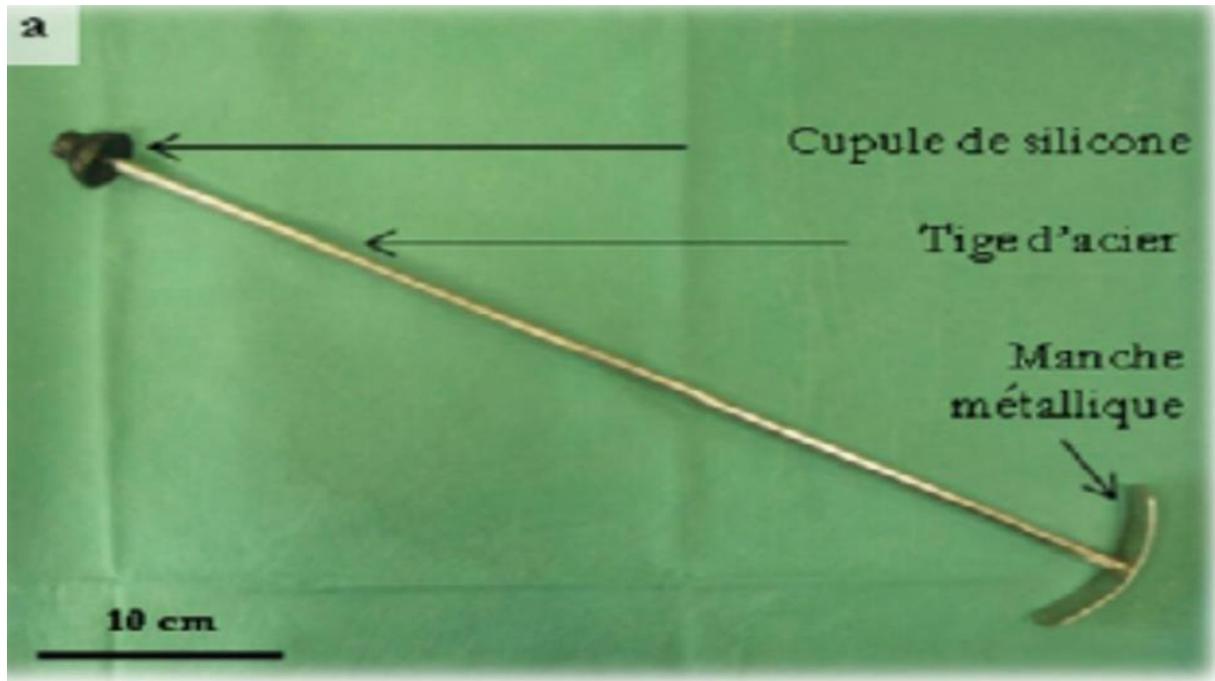
Classiquement, l'examen vaginal sera réalisé au moyen d'un spéculum en plastique ou en carton en cas d'usage unique ou d'un vaginoscope constitué de deux ou trois valves en métal. Il conviendra d'utiliser un spéculum de longueur adéquate pour visualiser le col utérin. Leur utilisation implique le respect d'une hygiène adéquate et d'une manipulation douce mais ferme en vue d'éviter toute contamination complémentaire ou lésion du tractus génital postérieur. L'intérêt majeur de ces systèmes est leur faible coût et la facilité de leur mise en place. Par ailleurs, ils permettent de caractériser la nature physiologique (muqueuse, muco-sanguinolente) ou pathologique (flocons de pus, mucopurulente, purulente, sanieuse) des écoulements présents dans le vagin. Enfin, il est possible ainsi de confirmer la présence éventuelle d'un pneumo ou urovagin ou de lésions cervicales ou vaginales.

L'examen manuel au moyen du bras revêtu d'un gant lubrifié est encore largement utilisé par les praticiens. Il a pour but de recueillir au moyen de la main d'éventuels écoulements présents dans la cavité vaginale (Figure n°24).

Il ne dispense son utilisateur de respecter les règles d'hygiène minimales. Il est sans effet sur le risque de contamination de l'utérus (pour autant qu'une hygiène vulvaire soit respectée). Il peut se traduire par une augmentation de la concentration des protéines aïgues de l'inflammation et retarder l'involution utérine (Sheldon et al. 2002).

Il est également possible d'utiliser le système MetricheckR (Figure n° 23). Appelé aussi « bâton à mucus » en Allemagne ou encore à « racleur à yaourt » en Hollande, il a été mis au point en 2002 par la firme Simcro en Nouvelle Zélande pour permettre aux éleveurs de détecter plus aisément les endométrites. Il consiste en un système métallique d'une longueur de 50 cm doté en son extrémité d'une sphère en caoutchouc (40 mm) permettant de retirer de la cavité vaginale le contenu éventuellement présent (Figure n°25). Le système ne nécessite aucune source lumineuse et permet un examen à distance de l'animal. Son emploi implique cependant une utilisation hygiénique et souple pour éviter les contaminations et les lésions

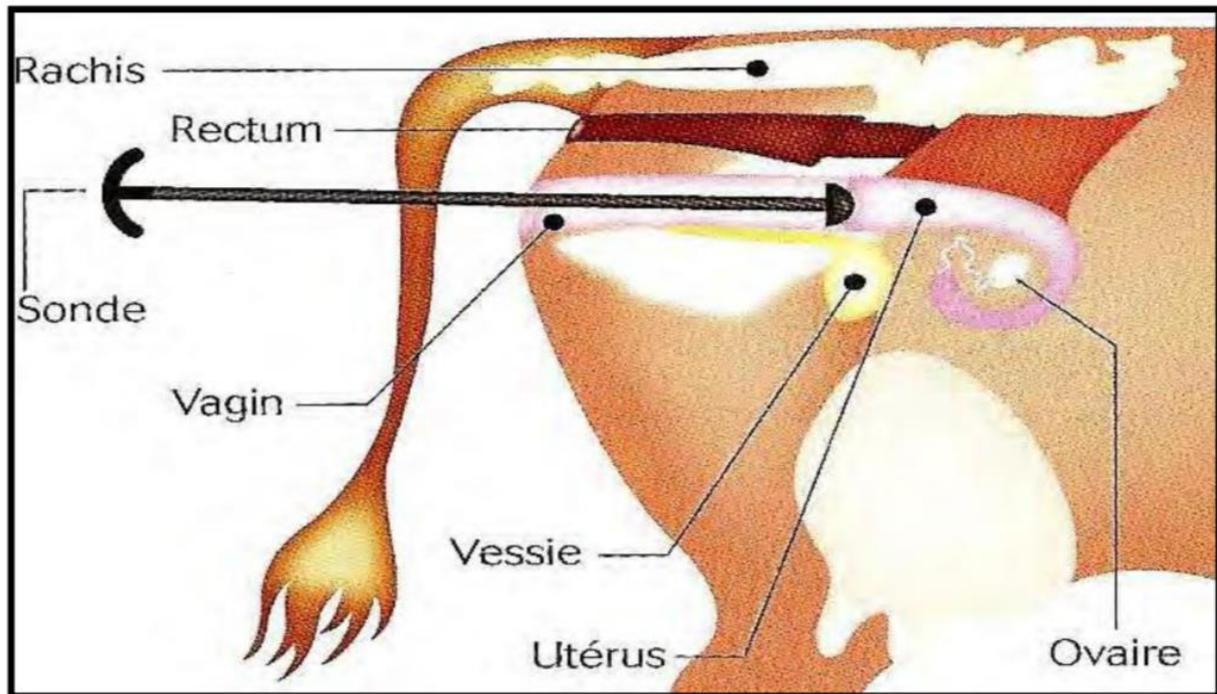
vaginales. La capacité diagnostique de la méthode n'est pas significativement différente de celle offerte par la vaginoscopie (Mee, 2007).



**Figure n°23:** Sonde intravaginale Métrichек® (Deguillaume, 2010).



**Figure n°24 :** Écoulement purulent recueilli à l'aide d'un gant lubrifié (ENVA, 2009).



**Figure n°25:** Principe de la mise en place de la sonde intravaginale Métrichéck® (Mee, 2007).

#### IV.5. L'examen bactériologique

##### IV.5.1 Méthodes de prélèvement

Les prélèvements peuvent être réalisés au moyen de la cuillère de Florent, par écouvillonnage de la cavité utérine au moyen d'un écouvillon à trois voies à usage unique utilisé chez la jument (système Equivet) ou par biopsie de l'endomètre.

Chacune de ces méthodes implique une hygiène rigoureuse de la région vulvaire et du matériel utilisé. La cuillère de Florent ne permet de recueillir que les sécrétions vaginales le plus souvent contaminées par des germes opportunistes. La sonde à trois voies présente le désavantage d'avoir un diamètre relativement important (9 mm) ce qui ne facilite pas chez la vache en anoestrus son passage transcervical. La pince à biopsie représente un investissement plus conséquent (300 Euros environ).

##### IV.5.2. Intérêt diagnostique

L'examen bactériologique permet de confirmer la présence ou non de germes dans l'utérus ou les écoulements. Cependant et pour diverses raisons, l'interprétation des résultats n'est pas

des plus aisée. Ils dépendent en effet de la méthode utilisée pour prélever un échantillon, des conditions de stockage et d'envoi des prélèvements, de la capacité du laboratoire à faire l'analyse demandée, de la présence en quantité suffisante du germe dans le prélèvement, de son association avec d'autres germes pathogènes ou opportunistes, de son caractère pathogène ou opportuniste (Tableau n°04: Williams et al. 2005) du stade du post-partum ou encore de la pression d'infection présente dans l'exploitation.

<b>PATHOGENES MAJEURS</b>	<b>POTENTIELLEMENT PATHOGENES</b>	<b>CONTAMINANTS OPPORTUNISTES</b>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Bacteroides sp.</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae</i>
<i>Prevotella melaninogenicus</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Proteus sp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	, coagulase negative
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococci α-Hemolytique</i>
	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus acidominimus</i>
	Non-hemolytique	<i>Aspergillus sp.</i>

**Tableau n°04:** Classification des germes responsables de endométrites en fonction de leur caractère pathogène (Williams et al. 2005).

#### IV.6. L'examen échographique

L'échographie est couramment utilisée par les vétérinaires praticiens dans le domaine de la reproduction. Elle est utilisée comme technique d'observation de l'activité ovarienne et pour le diagnostic précoce de gestation.

Après localisation de l'appareil génital par palpation transrectale, la sonde de 5 à 8 MHz, préalablement lubrifiée, est introduite avec délicatesse, en s'assurant de ne pas faire rentrer d'air dans le rectum ce qui provoquerait un pneumoréctum et compromettrait la reconnaissance des organes internes. Un contact proche entre sonde et organes génitaux permet une meilleure qualité d'image. Pour échographier l'utérus dans sa globalité, sa rétraction vers la cavité pelvienne et, si possible, sa flexion, sont nécessaires pour le déplacement de la sonde le long des différentes structures.

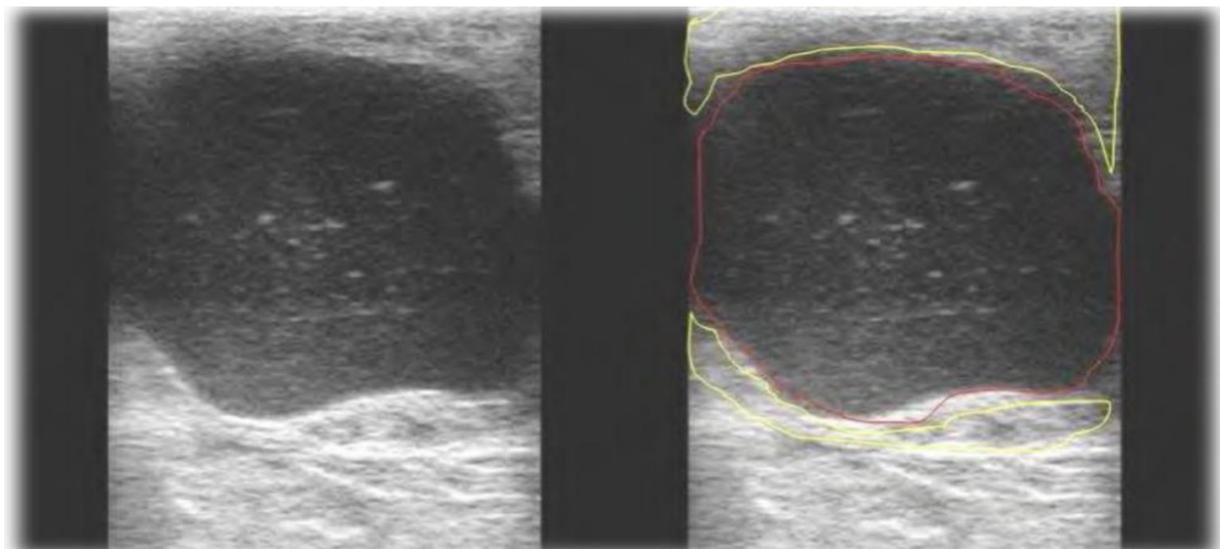
L'endométrite est habituellement diagnostiquée par échographie au travers de la mise en évidence de liquides utérins avec des particules échogènes en suspension. La facilité du diagnostic dépend de la quantité de liquides présents et donc du degré de l'endométrite.

L'image la plus caractéristique est donc celle du pyomètre (Figure n° 20); le contenu utérin est alors hétérogène et d'aspect floconneux (Foldi et al, 2006 ; Shledon et al, 2006).

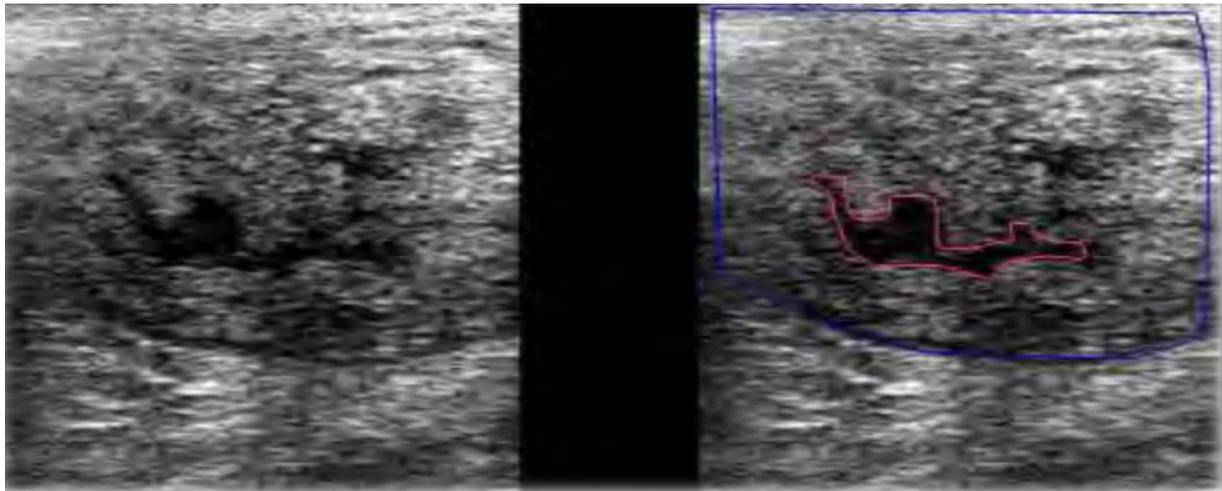
Il est possible par pression de la sonde de mettre les flocons en mouvement. La densité des flocons est très variable, parfois très faible, rendant la confusion possible avec l'urine; la paroi utérine est épaissie.

En cas d'endométrite chronique, l'accumulation de pus est moins importante que lors de pyomètre. On peut néanmoins dans certains cas observer une zone anéchogène en partie crâniale et déclive de l'utérus qui revêt le plus souvent une forme en étoile (Figure 10). Le pus apparaît non homogène et floconneux. Cependant, il semblerait que les images échographiques anormales identifiées (images en éponge, en cocarde, en ligne, en étoile) ne sont que peu associées à la présence d'une infection. Leur interprétation devrait davantage tenir compte des structures ovariennes associées (Deguillaume 2000

L'échographie autorise une détection des changements du tractus génital que ne permet pas la palpation transrectale (Mee et al, 2005)(Figure n°26,27).



**Figure n° 26:** Image échographique d'un pyomètre (la ligne jaune identifie les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine distendue) (Hanzen, 2009).



**Figure n° 27:** Image échographique d'une endométrite chronique (la ligne bleue identifie les contours de la paroi utérine et la ligne rouge le contour de la cavité utérine en étoile) (Hanzen, 2009).

#### IV.7. L'examen anatomopathologique

L'examen anatomopathologique implique la réalisation d'un prélèvement au moyen d'une pince à biopsie utérine. La méthode est identique à celle du prélèvement en vue de réaliser un examen bactériologique.

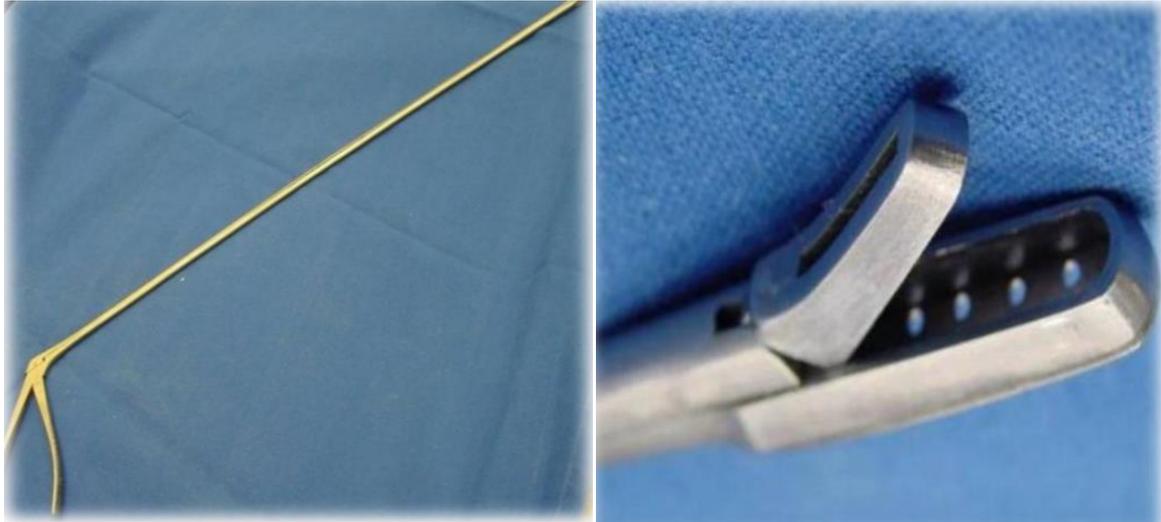
La méthode de réalisation du prélèvement doit être rapide, répétable, permettre d'obtenir des échantillons homogènes de haute qualité (Chapwanya et al, 2010) et ce sans nuire à la santé animale.

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 (De Bois et Manspeaker, 1986).

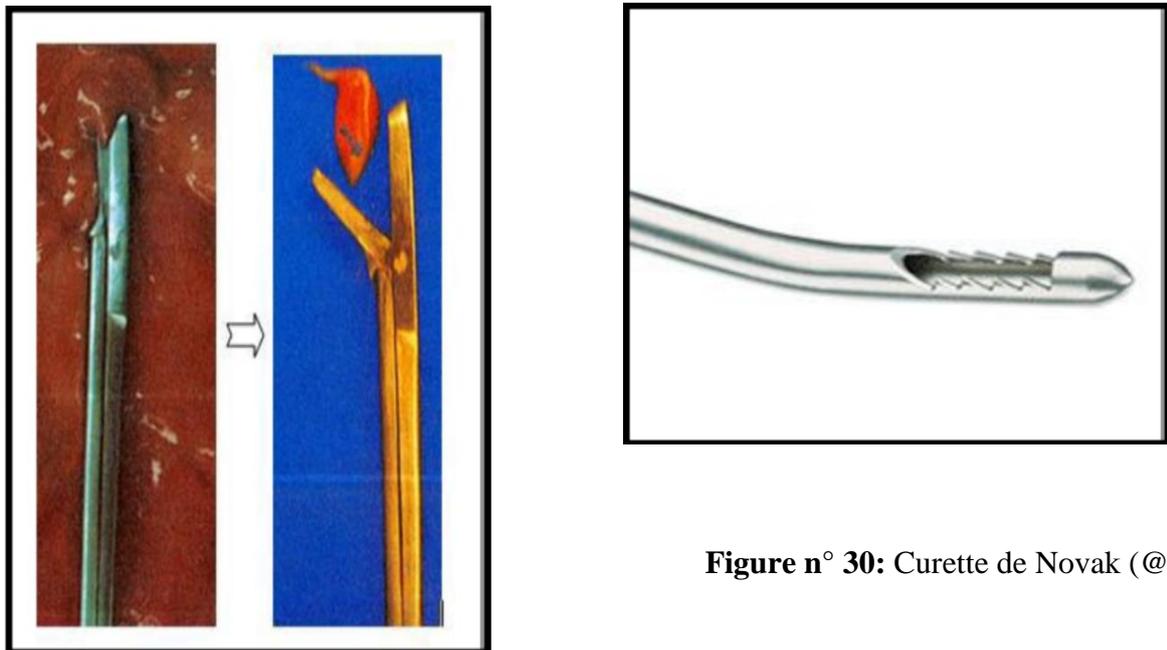
L'objectif de la biopsie utérine est de prélever un spécimen représentatif de l'endomètre comprenant l'épithélium, le stratum compactum et le stratum spongiosum, ainsi de mettre en évidence une inflammation génitale (endométrite/cervicite) qui sera délétère pour les performances de reproduction ultérieures. 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.

L'instrument de biopsie utilisé peut être une pince de Kenney (ou une pince à mâchoires ou une pince à mors crocodiles ou une pince Pilling) (figure 28). Chapwanya et al (2010)

utilisent l'instrument de biopsie endométriale équine de Hauptner. Ces instruments sont constitués d'un long manche (70 cm) à l'extrémité duquel s'articule une mâchoire de 4 cm de long (Chaffaux et al, 1987). D'après Chaffaux et al (1987), le prélèvement de muqueuse d'endomètre avec une telle pince est considéré comme correct, prenant toute l'épaisseur de cette muqueuse sans que l'instrument ne nuise à sa qualité (figure 29). En médecine humaine, les biopsies utérines peuvent être réalisées avec des curettes de Novak donnant des prélèvements de 3 mm (Cicinelli et al, 2005) (figure 30).



**Figure n°28 :** Pinces à biopsie de Pilling (Hanzen, 2013)



**Figure n° 30:** Curette de Novak (@ 1).

**Figure n°29:** Biopsie utérine : la taille appropriée du prélèvement (Tibary et Bakkoury, 1994).

**V.L'examen cytologique**

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.

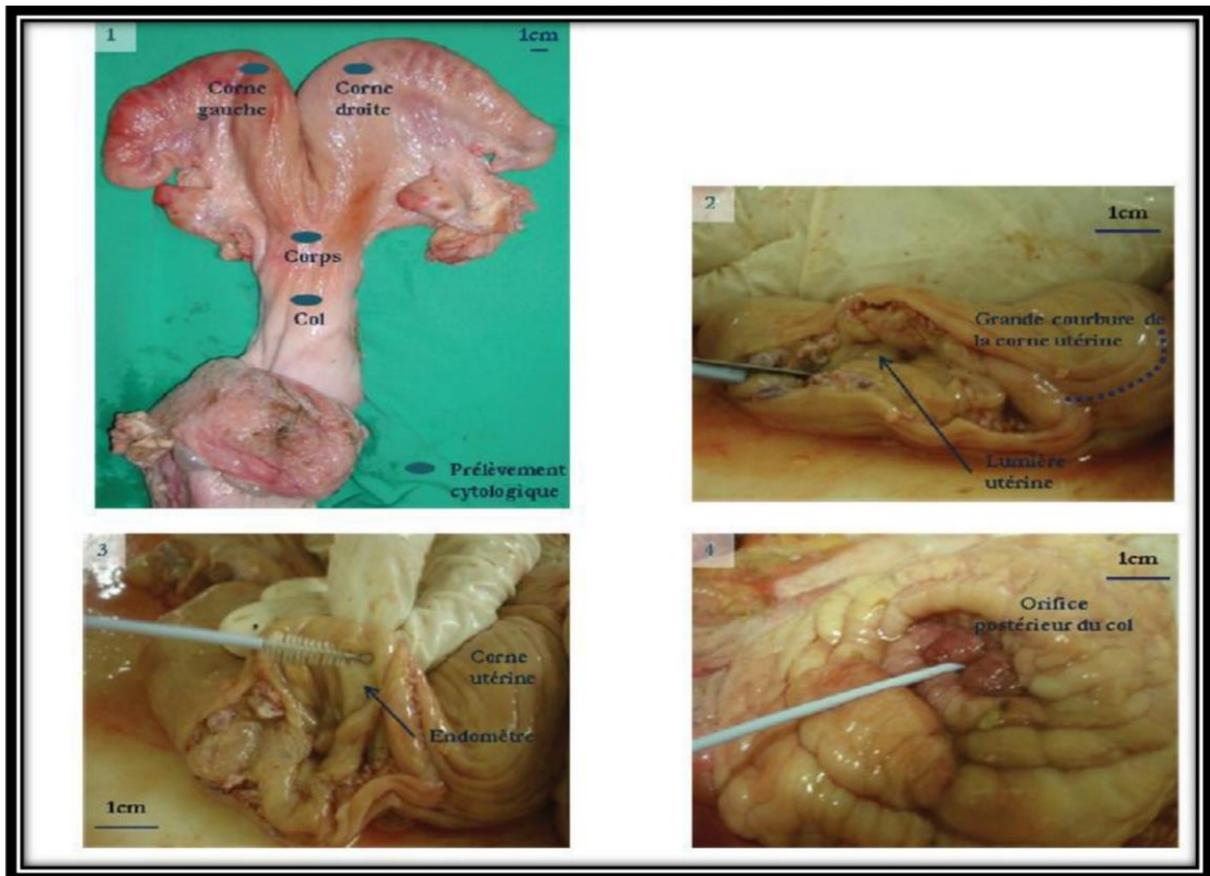
Chez d'autres espèces, comme la jument ou la femme, l'examen cytologique endométrial fait partie des techniques communément utilisées depuis de nombreuses années dans le diagnostic des endométrites, endométrioses et maladies inflammatoires pelviennes (Riddle et al, 2007 ; Leblanc et al ,2009).

**V.1. Matériel et méthodes de l'examen cytologique**

Un prélèvement pour examen cytologique et un prélèvement pour examen histologique ont été réalisés côte à côte à quatre sites distincts de l'appareil génital : au niveau du deuxième anneau cervical, à la base des deux cornes dans le corps utérin et dans la partie moyenne de chaque corne utérine.

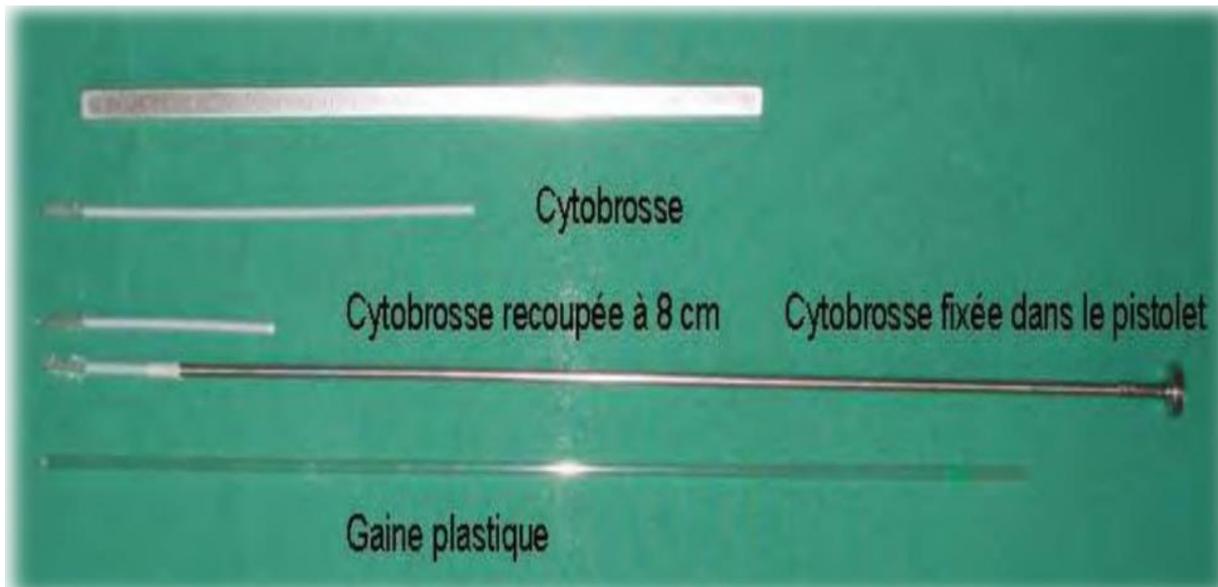
Les prélèvements dans le corps et les cornes utérines étaient réalisés après incision de l'utérus avec une lame de bistouri non stérile. Une cytobrosse (Cytotak™ Brush, Medical wire equipment co.ltd, Corsham, Wiltshire, Angleterre)(figure n°32-33).Était appliquée contre la muqueuse utérine et tournée dans un sens horaire, en appliquant une légère pression (figure 12-3). Une cytobrosse était utilisée par site de prélèvement. Ensuite, la totalité de l'épaisseur de l'utérus était prélevée à chaque site, à proximité du site de prélèvement cytologique, grâce à Punch à biopsie 8 mm (LCH medical products, Paris, France)

Le prélèvement cytologique endocervical ne nécessitait pas d'incision de la paroi cervicale. La brosse était directement insérée dans l'orifice externe de col jusqu'au deuxième anneau cervical (figure n°31). Quant à la biopsie cervicale, réalisée également au punch à biopsie, elle était faite après incision aux ciseaux de la partie dorsale du col.

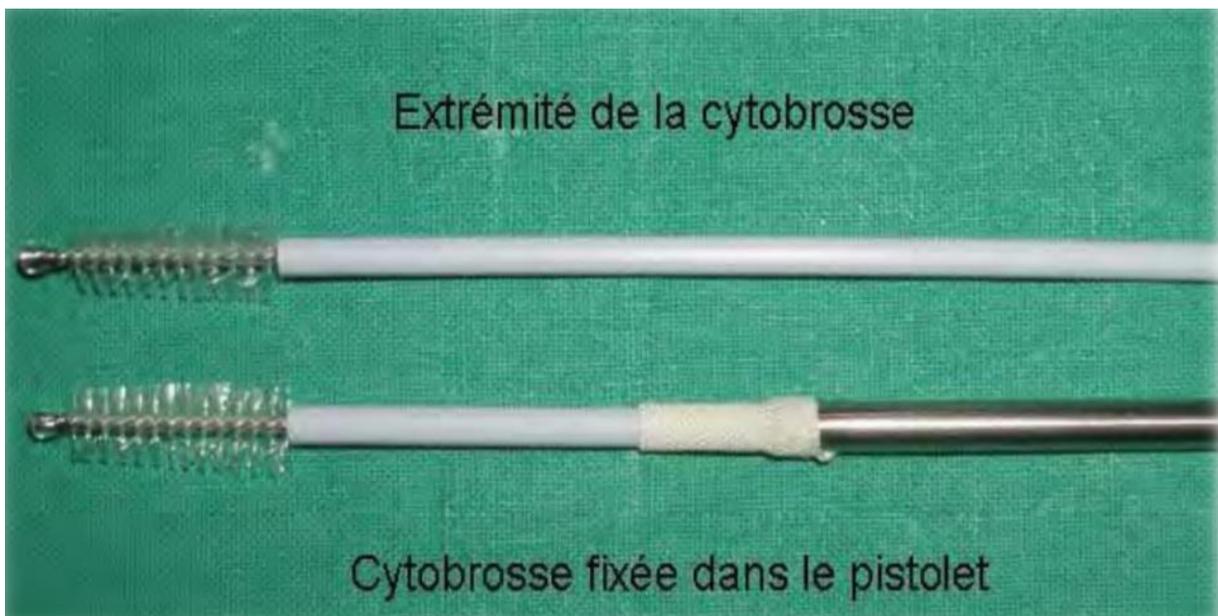


**Figure n° 31** : Prélèvements ex vivo sur utérus d'abattoir (Deguillaume, 2011).

1. Sites des prélèvements
2. Incision de la corne jusqu'à la lumière utérine, sur la grande courbure, par une lame de bistouri
3. Réalisation du frottis endométrial par rotation de la cytobrosse contre la paroi de l'endomètre
4. Réalisation du frottis endocervical par introduction de la cytobrosse dans l'orifice postérieur (externe) du col jusqu'au deuxième anneau cervical



**Figure n°32:**Matériel d'utilisation de la cytobrosse (Deguillaume,2007).



**Figure n°33:** Cytobrosse et système de fixation au pistolet d'insémination (Deguillaume,2007).

## VI. Impact des endométrites

Les endométrites perturbent le retour à l'état physiologique de l'utérus (Recorbet, 1987), mais impliquent également des perturbations hormonales et immunitaires très importantes (Singh et al, 2008 ; Sheldon et al, 2009b).

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

Les effets immunosuppresseurs de cette hormone sont connus depuis longtemps (Lewis, 2004 ; Singh et al, 2008), alors que l'œstradiol permet de stimuler l'épithélialisation, la vascularisation et la production de mucus (Bondurant, 1999 ; Sheldon et al, 2006 ; Azawi, 2008).

### **VI. I. Conséquences d'endomérite**

Les effets de l'endomérite sur la reproduction sont importants à prendre en compte dans les élevages aussi bien allaitants que laitiers. En plus de la pathologie en elle-même, elle peut perturber une future gestation. En effet, elle peut retarder la mise en place d'une cyclicité normale dégradant ainsi la fertilité et la fécondité de la vache. Les conséquences zootechniques seront alors importantes pour l'éleveur.

#### **❖ Conséquences sur la fonction ovarienne**

L'endomérite retarde la mise en place d'un nouveau cycle en interférant sur la folliculogénèse et la lutéolyse (Peter et al, 1988).

Williams, dans une étude récente, a observé une perturbation du déroulement normal de la croissance folliculaire chez des vaches en postpartum présentant une forte densité de bactéries pathogènes dans leur lumière utérine (Williams et al, 2007).

Il en résulte un retard de l'apparition du premier œstrus, estimé à cinq jours (Fourichon et al, 2004). Chez les femelles cyclées, l'endomérite peut causer la persistance des premiers corps jaunes postpartum, ce qui contribue à l'entretien de l'affection et son éventuelle évolution en pyomètre (Meissoner et Enriquez, 1998). A l'inverse, l'accumulation de pus dans la cavité utérine, caractéristique du pyomètre, peut provoquer la dégradation de la paroi utérine et son incapacité à synthétiser correctement des doses luteolytiques de PGF2 $\alpha$ .

### ❖ Conséquences zootechniques

Les conséquences zootechniques des endométrites comprennent une altération des performances de reproduction, une baisse de la production laitière et une réduction de la longévité soit par la mortalité des vaches atteintes, soit par réforme anticipée (Leblanc et al, 2002).

## VII. Traitement

L'objectif du traitement est l'amélioration des performances de reproduction (augmentation du taux de gestation et intervalle IA1-IAF) (Feldmann et al, 2005).

Il est probable que l'efficacité du traitement passe par l'élimination des germes et la suppression du processus inflammatoire, donc l'obtention d'une guérison clinique (Sheldon et al, 2006a).

Cependant, une guérison clinique spontanée est possible (Azawi, 2008; Kim et al, 2005). Dans l'étude de Gautam et ses collaborateurs (2009b), 25,3% seulement des endométrites cliniques non traitées persistaient au-delà de 60 jours postpartum, les autres ayant régressé naturellement. Certains praticiens estiment donc, lors de prévalence faible des endométrites dans un troupeau, que le traitement des animaux n'est économiquement pas justifiable.

### VII.1. Antibiothérapie par voie général

L'antibiothérapie par voie générale à base d'oxytétracycline en IM revient extrêmement chère à l'éleveur, son utilisation non justifiée est donc fortement déconseillée. L'antibiothérapie par voie générale est donc réservée au traitement des métrites entraînant une baisse de l'état général de l'animal, et non au traitement des endométrites (Westermann et al, 2009).

### VII.2. Anti-inflammatoires par voie générale

De nombreuses spécialités sont disponibles sur le marché. Mais Rappelons que le phénomène inflammatoire observé en cas d'endométrite est chronique et local, et qu'aucune hyperthermie n'est détectable. Or, l'utilisation d'anti-inflammatoires par voie générale vise à limiter les phénomènes d'inflammation aiguë, et souvent, les molécules possèdent également un effet antipyrétique. Ces molécules ne sont pas destinées au traitement des endométrites,

mais au traitement des métrites, survenant plus tôt dans la période postpartum (avant 21 jours), et entraînant des altérations de l'état général de la vache examinée.

### VII .3. Prostaglandines F2 $\alpha$ (PGF2 $\alpha$ )

Le traitement est parfois jugé efficace pour la guérison clinique et les performances de reproduction (Drillich et al, 2005 ; Heuwieser et al, 2000). Dans d'autres cas, il est considéré comme inefficace, voire délétère (Mejia et al, 2005).

L'injection des prostaglandines doit être réalisée par voie intramusculaire stricte, et les auteurs ont proposé différents intervalles de traitement : injection unique au moment du diagnostic (Mejia et Lacau-Mengido, 2005), ou injections répétées : 2 à 3 fois à 14 jours d'intervalle (LeBlanc et al, 2002b ; Galvao et al, 2009).

L'administration de PGF2 $\alpha$  est certainement le traitement des endométrites le plus discuté à l'heure actuelle. Elles sont largement utilisées pour son effet utérotonique (Hirsbrunner et al, 1998), mais cette action est très controversée chez les bovins (ChastantMaillard et Duffin, 2008).

Elles possèdent également une activité lutéolytique, permettant d'obtenir la lyse du corps jaune, un nouveau cycle donc une ovulation, et une expulsion du contenu utérin. Les PGF2 $\alpha$  permettraient également d'annuler les effets immunosuppresseurs de la progestérone, et ainsi de réactiver les défenses de l'utérus (Hendricks et al, 2006 ; Sheldon et al, 2006a).

### VII .4. Antibiothérapie par voie intra-utérine

#### ❖ Les critères de choix d'un antibiotique intra-utérin

L'administration d'antibiotiques par voie intra-utérine est un moyen de traitement très répandu, car simple d'utilisation, l'injection intra-utérine est souvent unique et le coût pour l'éleveur est acceptable. Le spectre de l'antibiotique administré doit donc être large, d'autant plus que *A. pyogenes*, *E. coli* et *F. necrophorum*, associés aux endométrites, ont des caractéristiques bactériologiques très différentes. Notons cependant que les tétracyclines sont le principe actif d'oblets intra-utérins, qui ne constituent pas une forme galénique de choix pour le traitement des endométrites.

Plusieurs études montrent l'intérêt d'une administration IU d'antibiotiques dans le traitement des endométrites cliniques ou subcliniques, et dans l'amélioration de certains paramètres de

reproduction. Cependant, en raison des résistances connues pour les 2 autres spécialités, seule la céfapirine (Métricure®) fait encore l'objet d'essais cliniques publiés dans des revues soumises à comité de lecture (Fournier et Chastant-Maillard, 2006).

D'après LeBlanc et ses collaborateurs (2002b), les vaches atteintes d'endométrite clinique, recevant entre 27 et 33 JPP 500 mg IU de céfapirine (Métricure®), présentent un taux de gestation supérieur à celui obtenu dans le groupe témoin, et l'intervalle V-IAF a eu aussi tendance à diminuer (de 29%,  $p=0,1$ ). L'utilisation des antibiotiques intra-utérins semble donc avoir des effets bénéfiques en termes de guérison clinique, et de performances de reproduction, sans avoir d'effets délétères (réduction du taux de gestation) sur l'utérus. Il est cependant nécessaire de diagnostiquer l'affection et de traiter les animaux le plus tôt possible, afin de prévenir l'apparition de lésions importantes de l'endomètre, qui se traduira par une capacité de mise à la reproduction tardive.

On conclut, pour l'instant, sur le terrain, l'examen cytologique de l'endomètre et du col « reste le seul moyen de diagnostic fiable de l'inflammation génitale vers un mois postpartum » (Chastant-Maillard et Deguillaume, 2012).

Il est à l'heure actuelle considéré comme le « gold standard » du diagnostic de l'endométrite chez la vache alors que c'est plutôt la biopsie utérine qui occupe cette position pour l'évaluation de la fertilité dans la plupart des espèces. Compte tenu des inconvénients de la mise en œuvre de la biopsie utérine chez la vache par rapport à l'examen cytologique, il est intéressant d'évaluer les deux techniques de façon comparative.

L'étude expérimentale présentée ici consiste à prélever, ex vivo, à l'abattoir, quatre zones distinctes de l'utérus de vache (col, corps utérin, cornes droite et gauche). Sur chaque zone, un prélèvement histologique et un prélèvement cytologique contigus ont été réalisés.

L'objectif est de comparer le statut inflammatoire de chaque site obtenu par les deux techniques (cytologie et histologie) et d'évaluer l'homogénéité de l'inflammation au sein du tractus génital.

# Matériel et Méthodes

---

Actuellement, l'examen de référence pour évaluer l'état inflammatoire de l'utérus de vache est la cytologie. Seules les cellules en surface sont visualisées dans un tel examen. La question se pose donc de savoir si ce prélèvement est réellement représentatif du statut inflammatoire réel de l'utérus tel qu'il peut par exemple être évalué par histologie. L'étude présentée ici vise tout d'abord à comparer les conclusions des examens cytologique et histologique en ce qui concerne le statut inflammatoire d'une zone donnée comme premier objectif. Puis, quatre secteurs génitaux (col, corps utérin, corne droite et gauche) ont été échantillonnés avec comme second objectif d'évaluer l'homogénéité de l'inflammation au sein de l'appareil génital.

## **I. Matériel et méthodes**

### **I.1. Lieu et durée du travail**

Cette étude expérimentale est une étude ex vivo. Elle s'est déroulée d'une part au niveau de l'abattoir municipal de Tiaret et au niveau du laboratoire anatomopathologique qui se trouve au sein de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret d'autre part; cela durant une période s'étalant de la fin du mois janvier 2019 jusqu'au mois de juin.

### **I.2. Présentation de l'abattoir**

L'abattoir a été construit en 1950 et était destiné à l'exportation des viandes rouges, avec une capacité d'abattage de 2000 ovins et caprins /mois et 70 bovins /mois. L'abattoir est séparé en deux locaux : l'un est destiné à la stabulation des animaux et pour la diète hydrique tandis que l'autre est consacré à l'abattage. Il existe deux aires d'abattage : l'une pour les ovins et les caprins et l'autre la plus étroite pour les bovins, dont la superficie représente moins de la moitié de celle réservée aux ovins et aux caprins.



**Figure n°34** : Photo de l'abattoir de Tiaret.

### **I.3. Constitution de l'échantillon d'étude**

Notre étude a été menée sur 30 vaches (donc 120 prélèvements cytologiques réalisés), dans cette présente étude nous souhaitons avoir autant de vaches dites «cytologiquement» positives que négatives.

Durant la période expérimentale, un nombre de 100 tractus génitaux étaient récupérés, au fur et à mesure de leur arrivée. Aucune donnée individuelle concernant l'animal (parité, production laitière, délai postpartum, performances de reproduction, stade du cycle œstral) n'était disponible. Les utérus découverts gravides suite à l'incision des cornes utérines étaient exclus de l'étude ainsi les vaches brucelliques et tuberculiques. Finalement, 30 appareils génitaux correspondant aux critères (absence de gestation) ont été analysés.

### **I.4. Matériels de la cytologie**

- Un ciseau pour ouvrir la matrice ;
- Ecouillons CITOLABO;
- Lames à microscope SLIDES boîte de 50 pièces ;

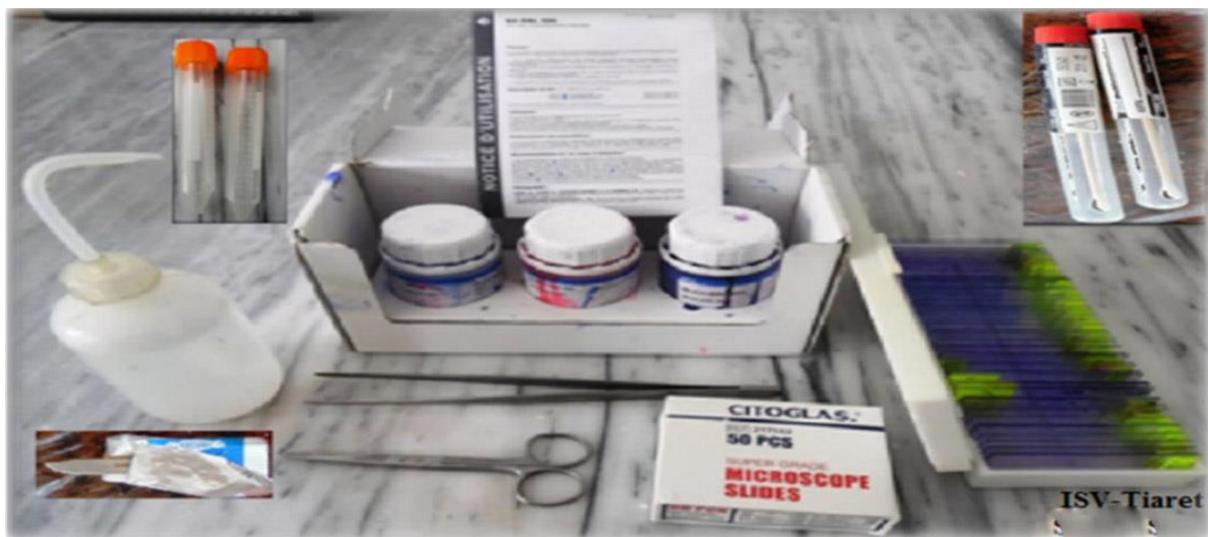
## Matériel et Méthodes

---

- Boîte de transport pour 50 pièces de lame « BOXE SLIDES » ;
- May-Grünwald Giemsa kit de coloration rapide « Kit RAL -555- » (annexe 01) ;
- Microscope optique «Zeiss Primo Star» (**annexe 02**).

### I.5. Matériels de l'histologie

- Lame à bistouris ;
- Pince de préhension à dents de souris ;
- Tubes en plastiques ;
- Formol à 10% ;
- Cassettes perforées d'inclusion (**annexe 03**) ;
- Automate d'imprégnation (**annexe 04**) ;
- Automate d'enrobage par la paraffine (annexe 05) ; □ Microtome (**annexe 06**) ;
- Bain marie (**annexe 07**) ;
- Bains de déparaffinage et de coloration (H/E) (**annexe 08**) ;
- Etuve (**annexe 09**) ;
- Baume de canada (**annexe 10**).

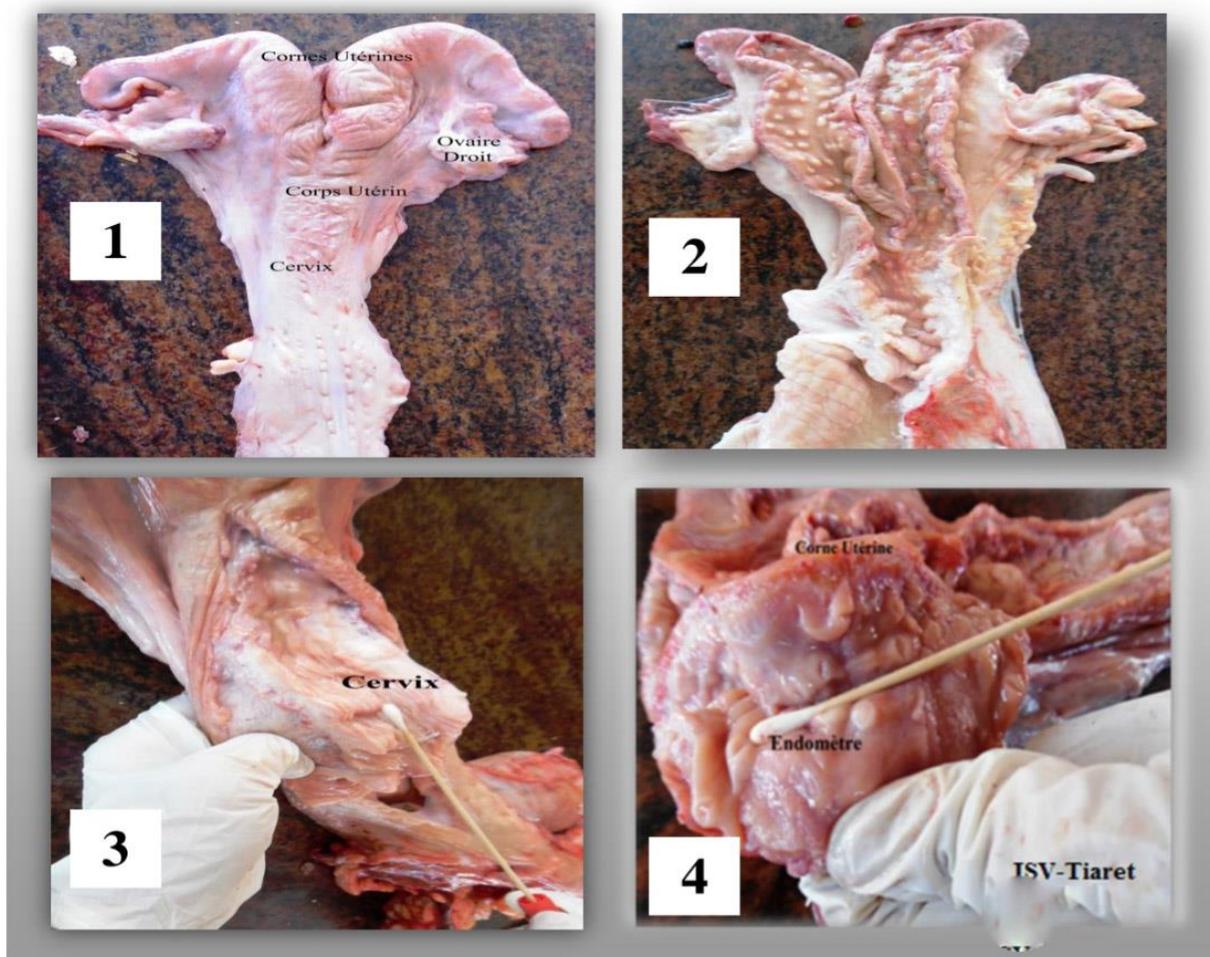


**Figure n° 35:** Matériel des prélèvements cytologiques et histologiques.

### I.6. Protocole expérimental

Un prélèvement pour examen cytologique et un prélèvement pour examen histologique ont été réalisés côté à côté à quatre sites distincts de l'appareil génital : au niveau du deuxième anneau cervical, à la base des deux cornes et dans le corps utérin (Figure n°36).

Les prélèvements étaient réalisés après incision de l'utérus avec un ciseau non stérile. Au lieu d'une cytobrosse un écouvillon est utilisé, ce dernier était appliqué contre la muqueuse utérine et tourné dans un sens horaire, en appliquant une légère pression (**Figure 36**). Un écouvillon était utilisé par site de prélèvement. Ensuite, une partie de l'épaisseur de l'utérus était prélevée à chaque site (partie endométriale), à proximité du site de prélèvement cytologique, grâce à une pince de préhension à dents de souris et une lame de bistouri pour une biopsie.



**Figure n° 36** : Prélèvements ex vivo sur utérus d'abattoir.

## Matériel et Méthodes

---

1. Sites des prélèvements (cervix, corps utérin, corne droite et corne gauche) ;
2. Incision de la corne jusqu'à la lumière utérine, par un ciseau ;
3. Réalisation du frottis endocervical ;
4. Réalisation du frottis endométrial par rotation du l'écouvillon contre la paroi de l'endomètre.

### I.7. Préparation des échantillons

#### a. Réalisation des frottis

La réalisation des frottis a été effectuée généralement juste après la récolte des cellules. L'écouvillon était ensuite roulé sur une lame en verre pour microscope (**Figure n° 37**). Si le prélèvement était fortement muqueux ou contaminé par du sang, plusieurs frottis successifs étaient réalisés. Les frottis étaient ensuite séchés à l'air libre et rangés dans des boîtes de transport.



**Figure n° 37** : Photo d'un frottis cytologique.

## Matériel et Méthodes

### b. Réalisation des biopsies

Les utérus ont été prélevés immédiatement après l'abattage et placé dans une glacière pour être transporter au laboratoire dans 2 à 3 heures. Les caractères physiques de l'utérus, des ovaires, ont été enregistrés.

Les biopsies étaient retirées délicatement et déposées dans des flacons préalablement remplis par du formaldéhyde 10%



**Figure n° 38 :** Image indiquant la réalisation d'un prélèvement biopsique.

Au final, on obtenait un frottis et un prélèvement biopsique par site, soit 4 frottis et 4 biopsies pour chaque tractus comme dans la Figure n° 39 ci-dessous:



**Figure n° 39:** Image représentante des prélèvements cytol0ogiques et histologiques.

## Matériel et Méthodes

---

### I.8. Coloration des lames

#### a. Cytologie

Les lames ont été colorées par la coloration de May-Grünwald-Giemsa. La coloration a été réalisée manuellement au niveau de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

#### Réactifs utilisés :

- Kit RAL 555 (RAL Diagnostics, Martillac, France).
- Composition ; 100 ml de FIX-RAL (référence 362870-0100), 100 ml d'EOSINE RAL 555 (réf : 361640-0100), 100 ml de BLEU-RAL 555 (référence : 361550-0100).



**Figure n° 40 :** Coloration des frottis cytologiques.

#### b. Histologie

Les biopsies plongées dans du formol 10% (1/10) ont été transportées telles quelles jusqu'au laboratoire d'anatomopathologie de l'institut vétérinaire de Tiaret. Elles ont été préparées selon la technique classique :

# Matériel et Méthodes

---

## b.1. La fixation

La fixation tissulaire est un temps essentiel qui conditionne toutes les étapes ultérieures. Elle a pour but la conservation des différents éléments structuraux du tissu et de ralentir sa dégradation. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur à base du formol 10% pendant une période allant de 24 à 48 heures (@2).

À partir de chaque partie du tractus génital (cervix, corps utérin, corne droite et corne gauche) on découpe des échantillons.

Les échantillons sont placés dans des cassettes perforées en plastique afin de faciliter la circulation des liquides et assurer un drainage correct au cours des étapes d'imprégnation dans un automate.

Il faut identifier précisément chaque prélèvement et chaque cassette pour éviter toute confusion (**annexe 03**).

## b.2. Imprégnation

L'imprégnation repose sur la substitution de l'eau qui est dans les tissus par une substance totalement hydrophobe et chimiquement inactive, telle que la paraffine ; cette matière rigide lui donne la résistance mécanique voulue pour durcir un tissu afin d'en tirer des coupes. C'est la substance la plus représentative des milieux d'inclusions fondus et la plus couramment utilisée. Par conséquent, plusieurs étapes doivent être réalisées.

- ❖ **Post-fixation** permet le passage des fixateurs aqueux aux alcools. Elle correspond à un bain de fixateur formolé (formol tamponné).
- ❖ **Déshydratation** consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient. Elle se fait par le passage dans des bains d'éthanol de concentrations croissantes (70°, 96°, et 100°) avec une durée de 7h, 17h et 4h, respectivement.
- ❖ **Substitution** consiste à remplacer l'éthanol qui n'est pas miscible à la paraffine par un solvant : « xylène ». Ce solvant est miscible à la fois au déshydratant et à l'agent d'inclusion, on parle d'agents « éclaircissants » (car ils ont la propriété de rendre translucides les tissus qu'ils imprègnent).
- ❖ **Imprégnation** correspond à la substitution du solvant par la paraffine. Cette étape terminale est relativement agressive car la paraffine n'est liquide qu'à partir de 58°C et

## Matériel et Méthodes

---

à cette température les protéines sont altérées. Une imprégnation trop longue peut provoquer une rétroaction importante de toutes les structures et un durcissement excessif des pièces. À la fin du cycle, les paniers contenant les cassettes se trouvent dans un bain de paraffine chaude (liquide). Ils sont égouttés avant d'être transférés dans le bac d'attente du poste d'inclusion (**annexe 04**).

### **b.3 Inclusion et réalisation des blocs**

Le principe de l'inclusion consiste en un enrobage de la pièce par de la paraffine liquide, dont les spécimens ont été mis dans des cassettes pour être imprégnés à chaud par une paraffine de routine dont le point de fusion est de 54° à 56°C, la paraffine est coulée au quart dans des moules en acier inoxydable chauffés à 60° C et les fragments de tissus y ont été déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés ont été congelés à -20°C. L'inclusion ne se fait de façon satisfaisante que si la pièce ne contient ni eau, ni solvant (éthanol) après l'imprégnation (annexe 05).

### **b.4. Confection des coupes**

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant d'être réduits en coupes microscopiques à l'aide d'un microtome. Cette **microtomie** a pour but d'obtenir des rubans de qualité très fins de 5µm d'épaisseur. Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser la préparation et d'éviter les superpositions tissulaires (**annexe 06**).

Les coupes ont été ensuite étalées dans un bain marie à 50°C puis collées sur des lames (**annexe 07**).

Le facteur essentiel d'une bonne adhérence des coupes est la propreté des lames de verre ainsi que la qualité des coupes.

Il est important de contrôler la qualité de chaque coupe. S'assurer qu'il n'y a pas de plis ni de stries, que d'intégrité du prélèvement a été coupée et que le centrage du ruban sur la lame est parfait.

### **b.5. Étapes préparatoires à la coloration**

#### ➤ **Séchage des lames**

Pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant l'étape de déparaffinage, les lames doivent être identifiés et « cuites ». Cette cuisson permet d'éliminer (par évaporation) la

## Matériel et Méthodes

---

pellicule d'eau qui se trouve entre la coupe et la lame. Elle est réalisée dans une étuve dont la température doit être légèrement inférieure au point de fusion de la paraffine utilisée. Les portoirs de lames sont placés (de préférence en position horizontale) dans une étuve ventilée à 58°C pendant 1 heure (**annexe 09**).

### ➤ Coloration (**annexe 08**)

La coloration utilisée est la coloration hématoxyline éosine. L'hématoxyline (coloration du noyau) et éosine (coloration du cytoplasme). Elle consiste à :

- Déparaffinage par passage dans deux bains de xylène de 15 mn chacun ;
- Réhydratation par passage dans deux bains d'éthanol absolu de 5 minutes chacun puis dans un bain d'alcool à 70° pendant 5 minutes ;
- Coloration avec l'hématoxyline pendant 25 minutes ; □ Rinçage dans l'eau de robinet pendant 15 minutes ;
- Coloration à l'éosine pendant 15 minutes ;
- Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant ;
- Déshydratation dans l'alcool à 70° pendant 10 minutes puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes ;
- Séchage des lames dans du papier buvard ;
- Clarification dans le xylène pendant 15 minutes.

### **b.6. Montage**

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique (baume de canada) une lamelle couvre-objet sur la coupe afin de la protéger de la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent à l'air et débris mécaniques ainsi en prenant soins de dégager les bulles d'air (**annexe 10**).

En fin les coupes sont observées par la suite à l'aide d'un microscope optique Zeiss Primo star (**annexe 01**).

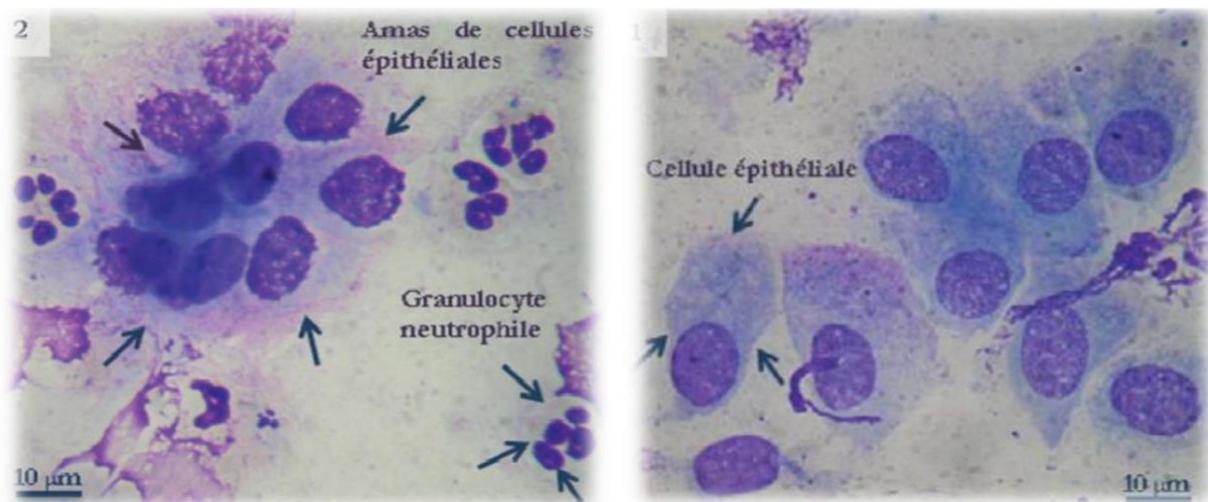
## I.9. Lecture des lames

### a. Cytologie

La lecture des lames cytologiques a été faite sur plusieurs temps : d'abord au plus faible grossissement (10X) pour attester de son homogénéité et rechercher une zone de lecture correcte, puis au grossissement intermédiaire pour le comptage cellulaire et finalement le plus fort grossissement (400X), (1000X) pour confirmer le type cellulaire présent (Ahmadi et al, 2006b ; Betsch, 1992).

Pour être comptée, une cellule doit avoir un contour nucléaire et cytoplasmique visible et intègre et faire partie de l'une des trois catégories suivantes : granulocyte neutrophile (GNN), autres leucocytes (les granulocytes éosinophiles, les lymphocytes et les monocytes) et cellule épithéliale (quel que soit son type: agranulaire, granuleuse ou squameuse) (**figure n°41**).

Ne sont pas comptées : les cellules anucléées (hématies et squames), les cellules abimées, les noyaux nus. Par ailleurs, la contamination sanguine est évaluée selon les caractéristiques suivantes : (0) pas d'hématie, (+) quelques hématies, (++) plusieurs plages de lecture fortement hémorragiques et (+++) plages hémorragiques incluant toutes les cellules à compter, lesquelles sont de morphologie altérée. Les lames ont été lues que par un seul opérateur.



# Matériel et Méthodes

---

## **b. Histologie**

Les 120 lames ont été lues en suivant une grille de critères construite d'après la littérature (Bonnet et al, 1991a) (**annexe 11**). Toutes les lames ont été lues par le même opérateur. Chaque lame était lue de la façon suivante. Au faible grossissement (100X), elle était balayée afin d'avoir un aperçu général de la coupe. On pouvait d'ores et déjà apprécier la densité et l'aspect des glandes utérines, la présence et le nombre de nodules lymphoïdes et la qualité de l'épithélium (absent, détruit). L'appellation de nodule lymphoïde a été ici extrapolée à toute concentration circulaire ou linéaire de cellules mononuclées, visible du grossissement 40X au grossissement 200X. Au grossissement 200X, on évaluait la fibrose péri-glandulaire en nombre de couches de fibroblastes concentrées autour des glandes. A ce stade, il s'agissait d'une évaluation subjective de la lame (sauf pour le nombre de nodules lymphoïdes) : la caractéristique la plus représentative de la lame était notée. Ensuite, au fort grossissement (400X), les lames étaient lues objectivement. Le comptage cellulaire était lu manuellement en créneau sur chaque champ. Pour être comptée, une cellule devait avoir un contour nucléaire et cytoplasmique visible et intègre, et faire partie de l'une des catégories suivantes : granulocyte neutrophile (GNN), cellule mononucléée (lymphocyte, plasmocyte, mastocyte...).

### **I.10. Collecte, saisie et synthèse des données**

Pour chaque utérus, les lames et les flacons étaient numérotés et identifiés de sorte à ce qu'ils correspondent au compartiment prélevé d'une vache donnée.

Les résultats obtenus à l'aide des fiches de lecture cytologique et histologique ont été saisis sur le logiciel Excel (Microsoft Office Excel 2007).

Les tableaux informatiques de la première saisie brute des données ont été transformés pour générer des données interprétables

## Matériel et Méthodes

---

### a. Cytologie

#### Etape 01 : lecture

N° de lame	GNN	Autre leucocyte	Cellules épithéliales	Difficulté Remarque
Cervix 1				
Corps Utérin 1				
Corne gauche 1				
Corne droite 1				

#### Etape 02 : transformation des données

N° de lame	Taux de PPN Cervix	Taux de PPN CG	Taux de PPN CD	Taux de PPN CU

**Figure n°42 :** Grille de lecture des données cytologiques brutes aux données interprétables.

« Cervix 1 » = lame du cervix de la vache n°1 ; Taux de PPN cervix = taux de neutrophiles cervical,

CG = corne gauche, CD= corne droite, CU= corps utérin, GNN = nombre de granulocytes neutrophiles comptés.

### b. Histologie

Plusieurs critères ont été prisent dans la lecture des lames d’histologie (aspect et la densité des glandes utérines, l’aspect d’épithélium luminal, et l’infiltration cellulaire de l’épithélium), mais le critère qui est retenu dans la notation finale des lames est l’infiltration des couches profondes par les neutrophiles. Au final, les données interprétables de la cytologie ont été confrontées à celles de l’histologie, et ce pour chaque lame.

### I.11. Analyse statistique

La description des données cytologiques et histologiques, le calcul des coefficients Chi2 ont été réalisés.

Un test de corrélation était appliqué pour déterminer s'il y a une corrélation entre les données cytologiques et histologiques ; l'interprétation du coefficient de corrélation ( $r$ ) s'interprète ainsi: plus  $r$  est proche de 1 avec une **p-value <0,05** plus les valeurs sont corrélées entre elles.

La totalité des analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du programme IBM SPSS statistics 21 English version ® (Statistical Package for the Social Sciences).

# Résultats

---

## II. Résultats

Dans les résultats qui vont suivre, il faut préciser que les prévalences qui apparaissent ne peuvent être extrapolées à la population totale de vaches car l'échantillon de vaches utilisé dans cette étude est biaisé (vaches envoyées à l'abattoir, aucun statut physiologique connu...).

Le tableau global des résultats est inséré en **annexe 12**.

### A. Descriptions cytologiques

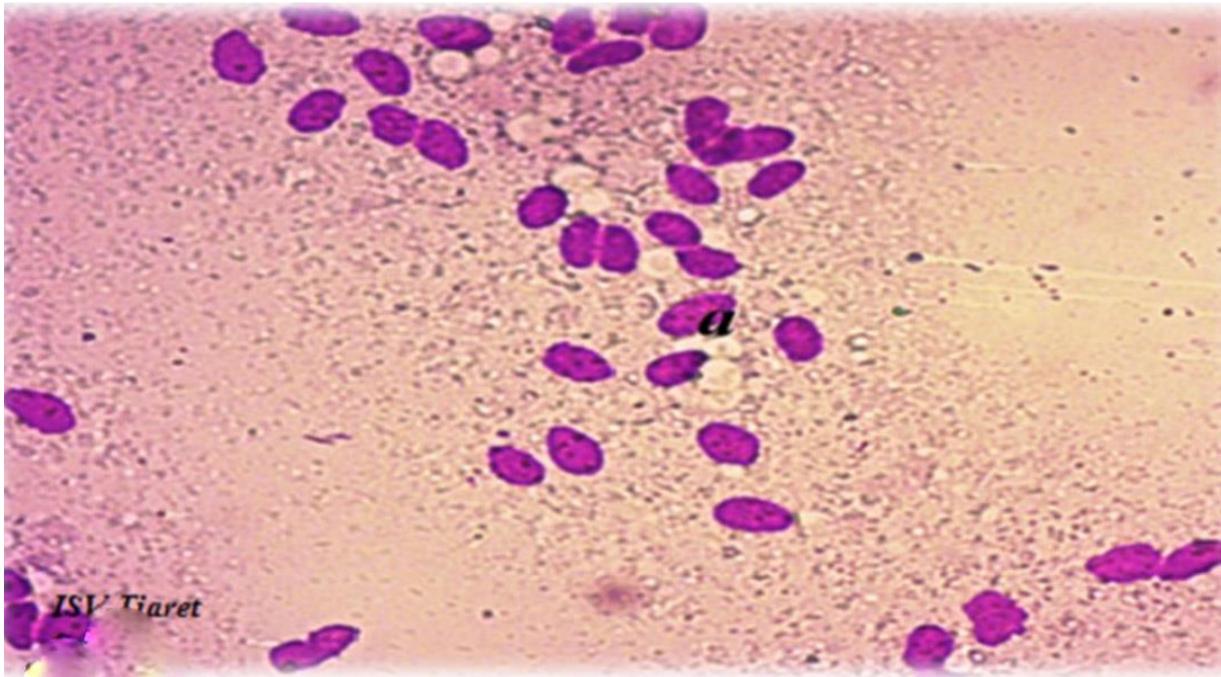
#### a. Description qualitative des populations cellulaires présente sur un frottis cytologique génital

L'examen microscopique des frottis que nous avons réalisé, nous a permis la mise en évidence : des polynucléaires neutrophiles (PNN), des lymphocytes (rarement) et les cellules épithéliales (CE). Ces dernières étaient les plus couramment observées dans tous les groupes.

Il a été rapporté que la présence d'un grand nombre de ces cellules dans un frottis utérin (corps utérin, corne gauche et corne droite) ou cervicale, associée rarement à des cellules inflammatoires, témoigne d'un prélèvement cytologique normal (Kasimanickam et al, 2004). Par contre, la mise en évidence des lymphocytes rares dans quelques frottis, nous a incités à éliminer ces cellules de l'étude. Les neutrophiles constituent la première ligne de défense contre les agents pathogènes.

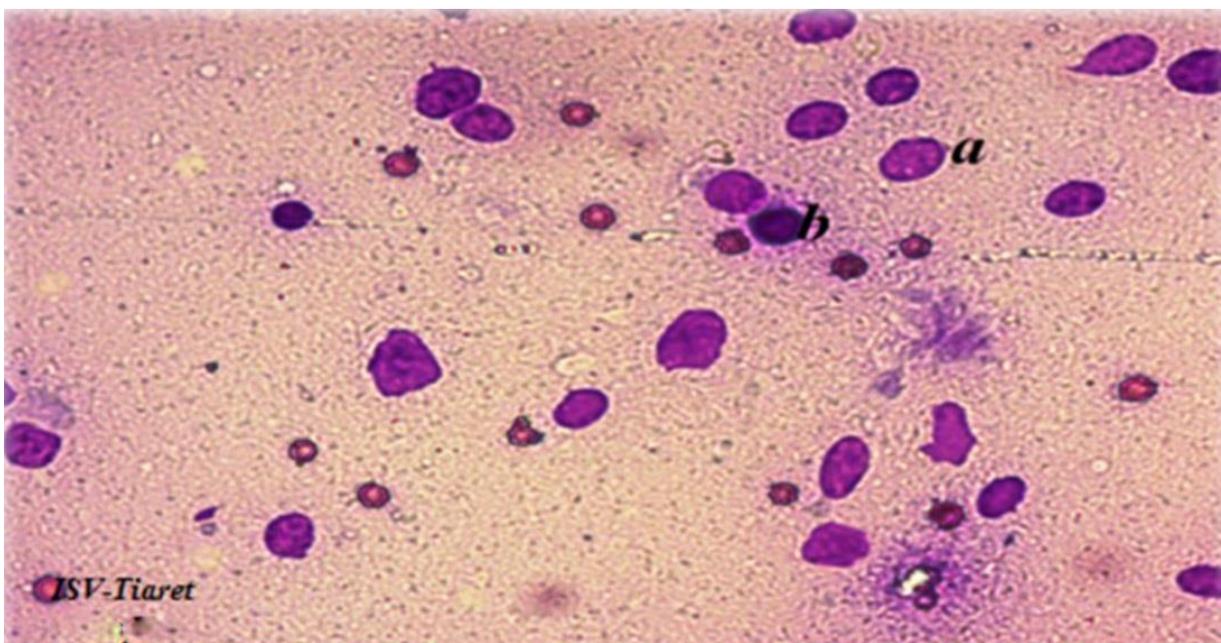
#### b. Cytologie endométriale et endocervicale

L'observation microscopique nous a permis de distinguer les différentes lignées cellulaires: Les cellules épithéliales (CE), rondes ou elliptiques, de noyau à chromatine réticulée, présentes sous forme isolées, ou au contraire en amas (**Figure n° 43**).



**Figure n°43:** Vache, Frottis cytologique endométrial (MGG, 400X) indique la présence de cellules épithéliales : a : Cellules épithéliales.

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) à noyaux segmentés (**Figure n° 45**). Les lymphocytes (**Figure n° 44**).



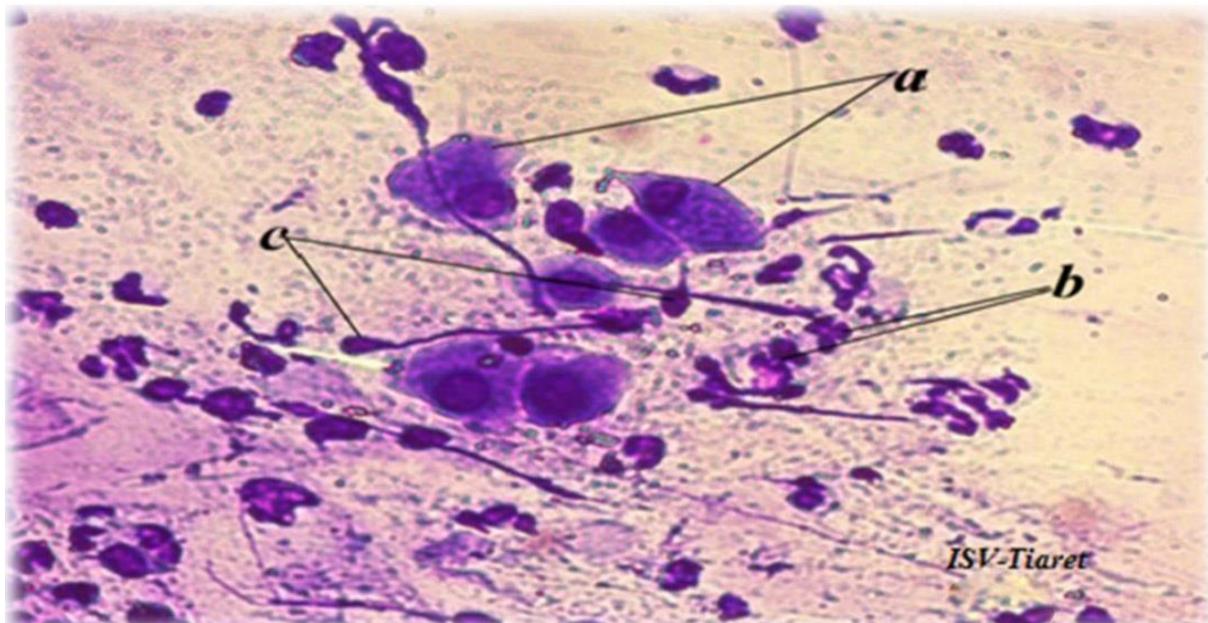
**Figure n°44 :** Vache, Frottis cytologique endométrial (MGG, 400X), indique la présence des cellules épithéliales et une cellule lymphocytaire : a : Cellule épithéliale ; b : Cellule inflammatoire lymphocyte.

## Résultats

---

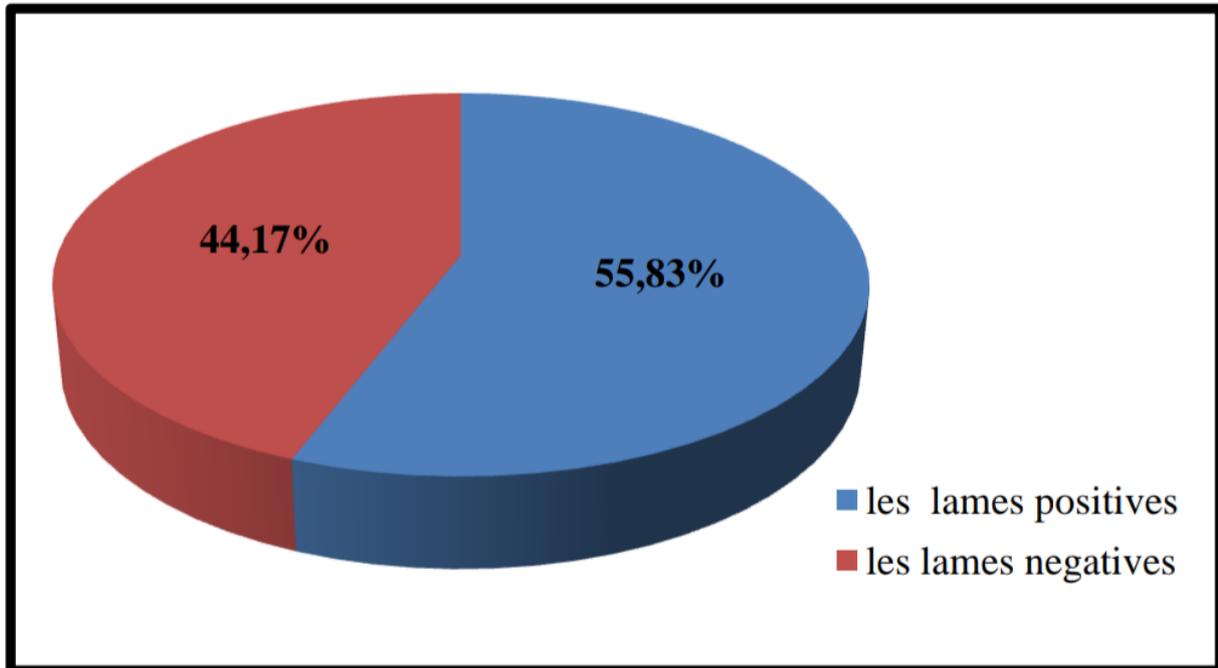
**Figure n° 45:** Vache, Frottis cytologique endométrial CG (MGG, 400X) : **a** : Cellules épithéliales, **b**: Amas de PNN.

Les frottis endocervicaux étaient constitués des mêmes composants cellulaires que les frottis endométriaux parfois on a remarqué la présence des spermatozoïdes (**Figure n° 46**).



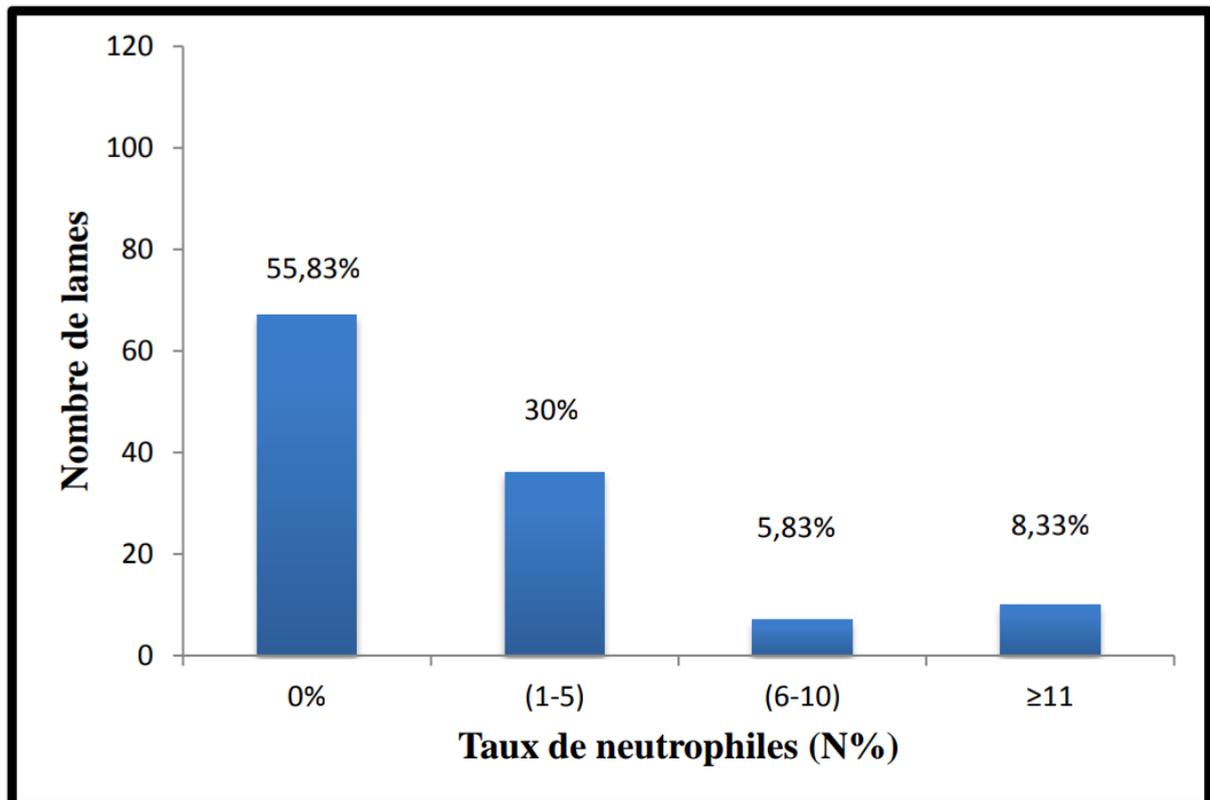
**Figure n°46:** Vache, Frottis cytologique, Col (MGG, 400X) : a : Cellules épithéliales, b : Amas de polynucléaires neutrophiles, c : Spermatozoïde.

### c. Description quantitative du taux des neutrophiles par site



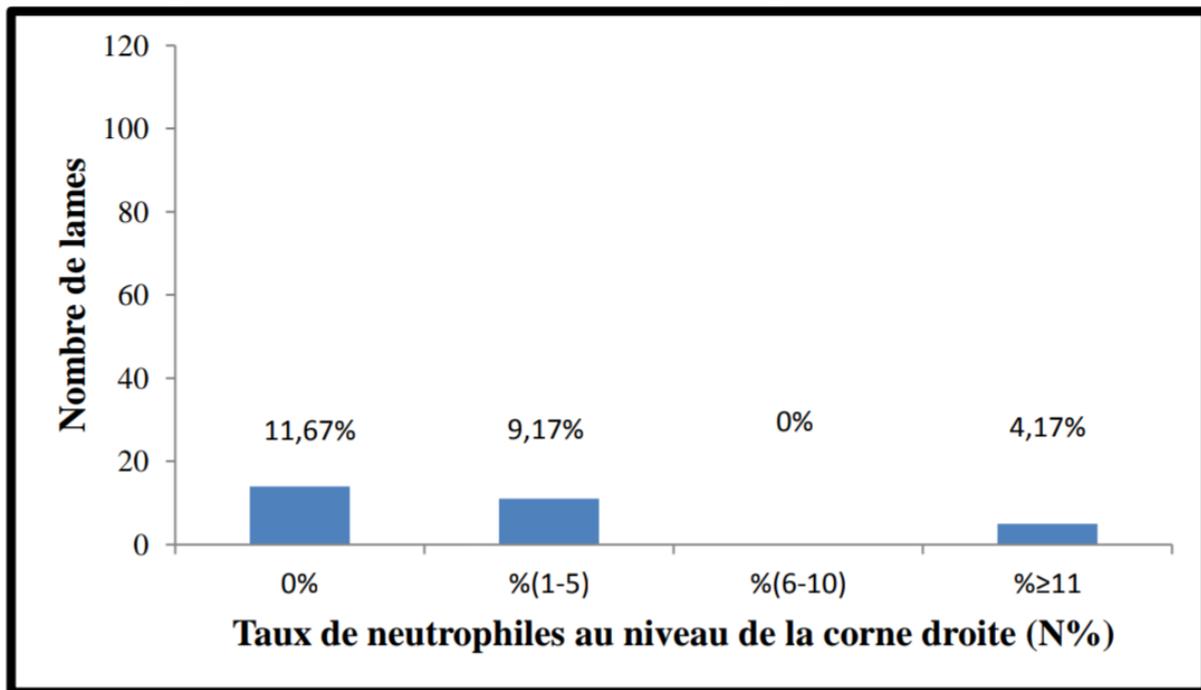
**Figure n° 47:** Nombre de lames positives et négatives.0

La figure ci-dessus présente le nombre de lames positives et négatives, on a remarqué que 55.83% des lames présentaient une réaction inflammatoire avec présence des PNN soit 67 lames et on a noté un pourcentage de 44.17% des frottis négatifs soit 53 lames du nombre totale des frottis.



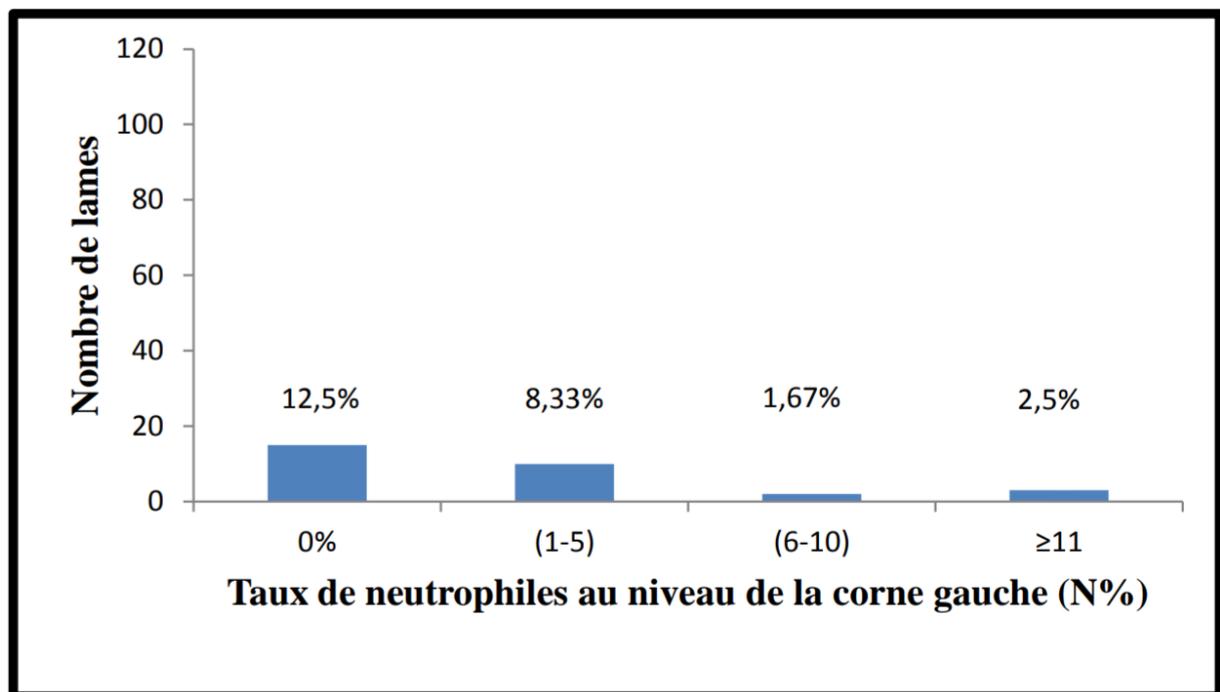
**Figure n° 48 :** Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles.

Dans l'histogramme ci-dessus on a remarqué que 55.83% des lames ne présentaient pas de neutrophiles, par contre 30% des frottis n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 5.83% des frottis avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 8.33% soit 10 frottis du nombre globale des lames.



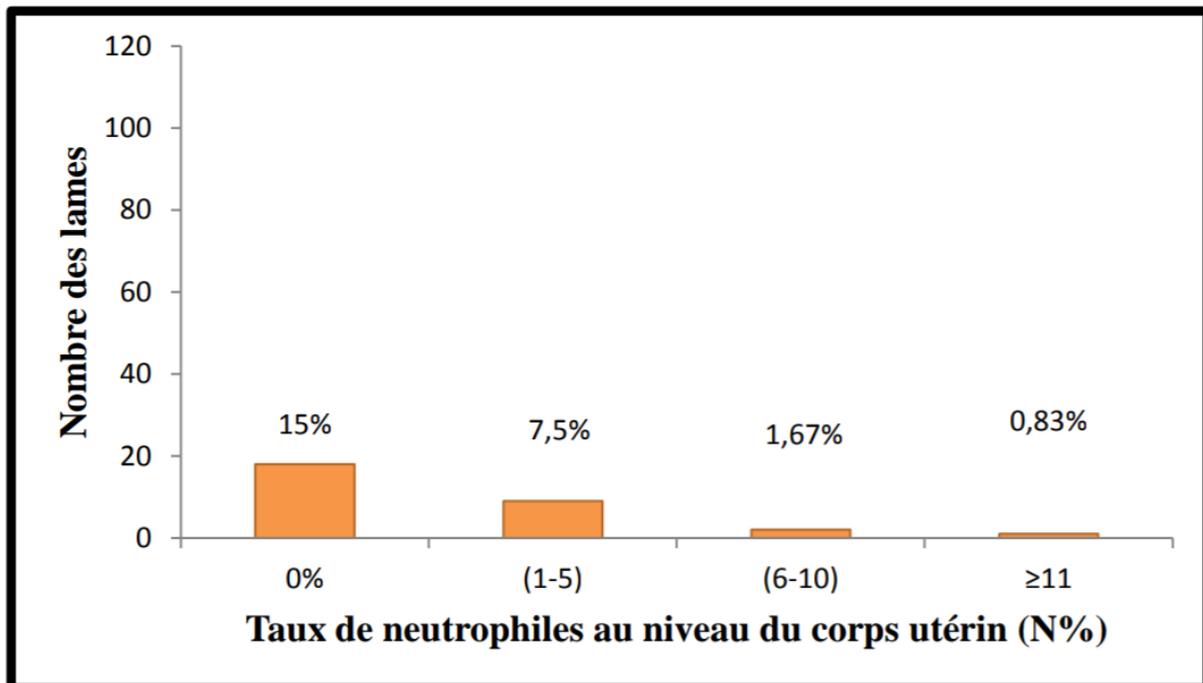
**Figure n° 49:** Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite.

Dans l'histogramme ci-dessus qui représente la répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite, on a remarqué que 11.67% des lames ne présentaient pas de neutrophiles, par contre 9.17% des frottis n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 0% des frottis avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 4.17% soit cinq frottis du nombre globale des lames.



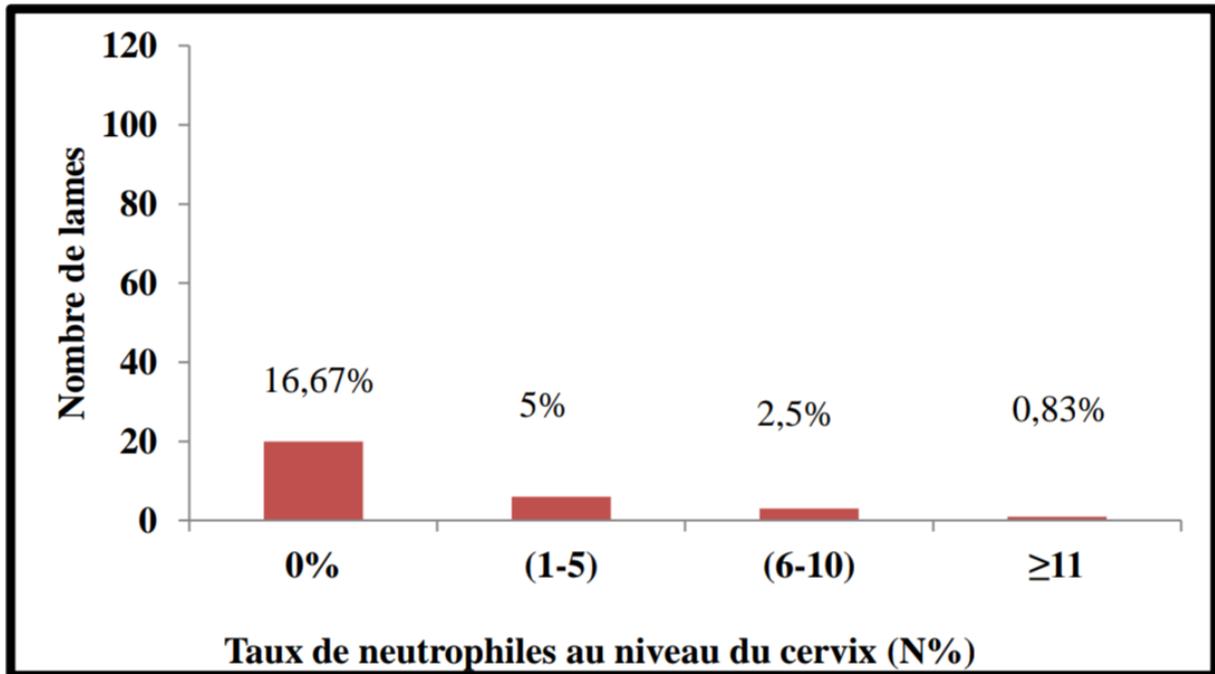
**Figure n° 50:** Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche.

Dans cet histogramme, qu'il représente la répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche, on a remarqué que 12.5% des lames ne présentaient pas de neutrophiles, par contre 8.33% des frottis n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 1,67% des frottis avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 2.5% soit trois frottis du nombre globale des lames.



**Figure n° 51:** Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin.

Dans l'histogramme ci-dessus, représentant la répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin, on a remarqué que 15% des lames ne présentaient pas (0%) de neutrophiles, par contre 7.5% des frottis n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 1.67% des frottis avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 0.83% soit un frotti du nombre globale des lames.



**Figure n° 52:** Répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du cervix.

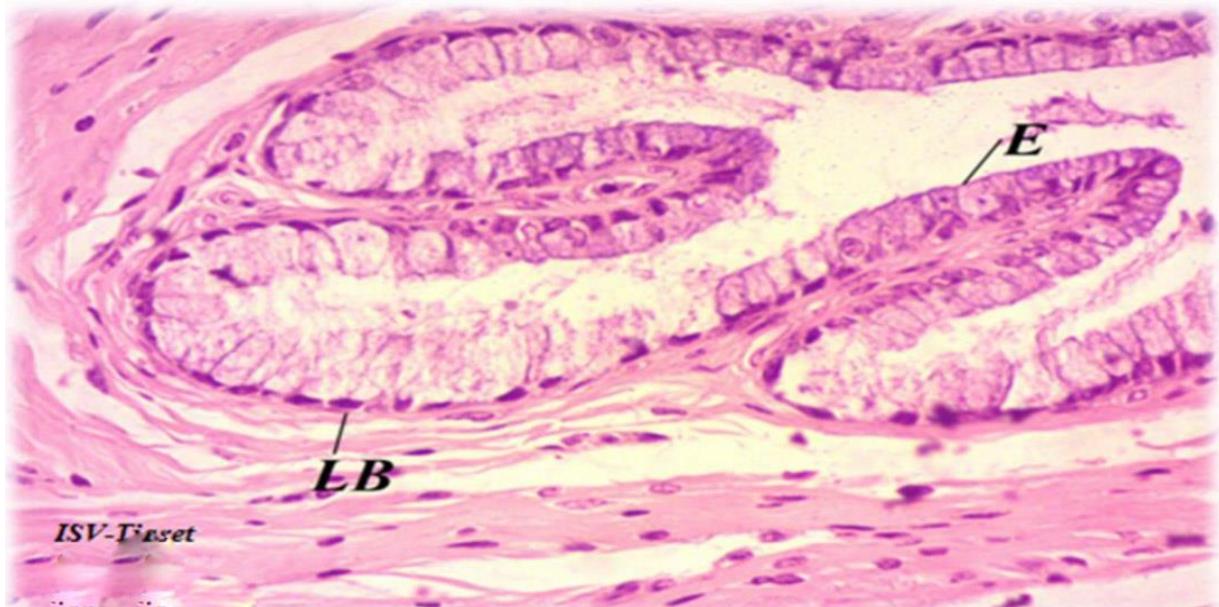
Dans ce dernier histogramme qui présente la répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du col utérin (cervix), on a remarqué que 16.67% des lames présentaient 0% de neutrophile, par contre 5% des frottis n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 2.5% des frottis avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 0.83% soit un frotti du nombre globale des lames.

### **B. Descriptions histologiques**

#### **a. Evaluation qualitative**

##### **1. Épithélium**

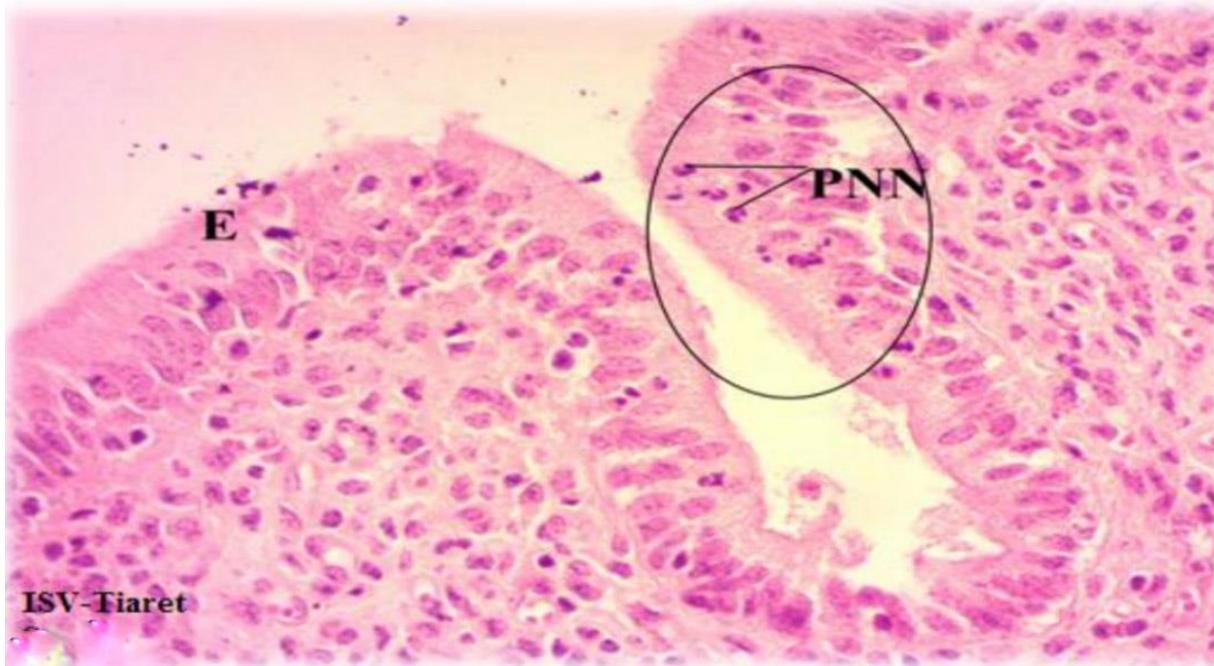
L'épithélium cervical et utérin étaient majoritairement de type cylindrique simple à pseudo-stratifié (Figure n° 48). Pour l'épithélium cervical, si le prélèvement était réalisé à proximité de l'ostium externe du col, alors l'épithélium pouvait être pavimenteux et stratifié (Barone, 1990).



**Figure n° 53:** Vache, Epithélium utérin de type cylindrique (HE, 400X) :

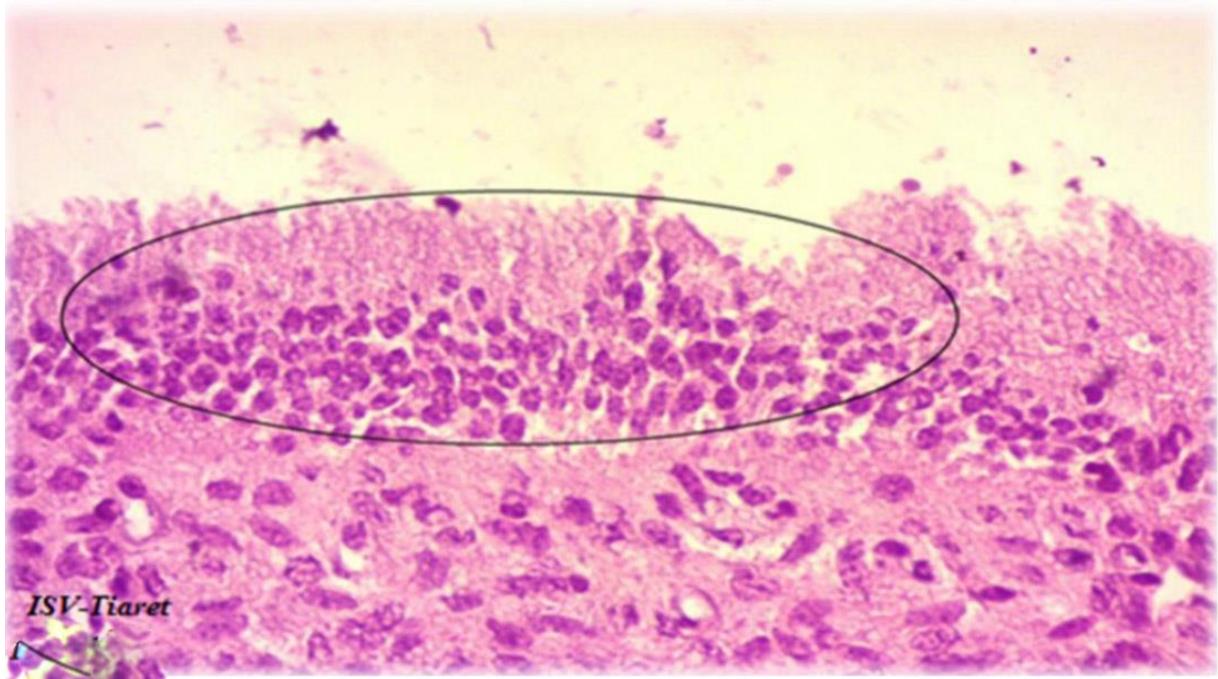
**LB** : Lame Basale, **E** : Epithélium.

Il pouvait être infiltré par différents types de cellules : mononucléées (lymphocytes, plasmocytes, macrophages) et neutrophiles (**Figure n° 54**). Dans notre étude l'infiltration par les cellules mononucléées n'était jamais importante contrairement à celle des neutrophiles qui pouvait parfois envahir l'épithélium. Néanmoins, il était courant de retrouver quelques cellules mononucléées (jusqu'à cinq cellules par champ; 400X) infiltrant l'épithélium contrairement aux neutrophiles qui eux étaient soit totalement absents soit présents en grande quantité.

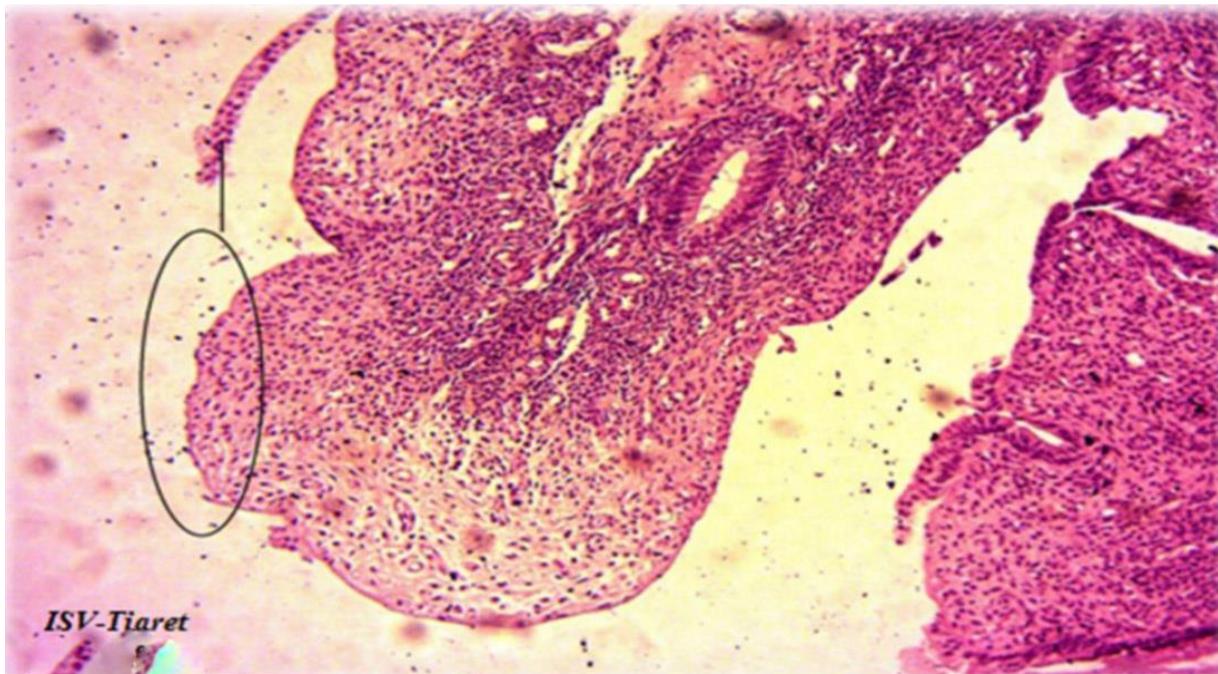


**Figure n° 54:** Vache, Coupe histologique de la corne gauche montrant l'infiltration de l'épithélium par les neutrophiles (HE, 400X) : **PNN:** Polynucléaire Neutrophiles, **E :** Epithélium.

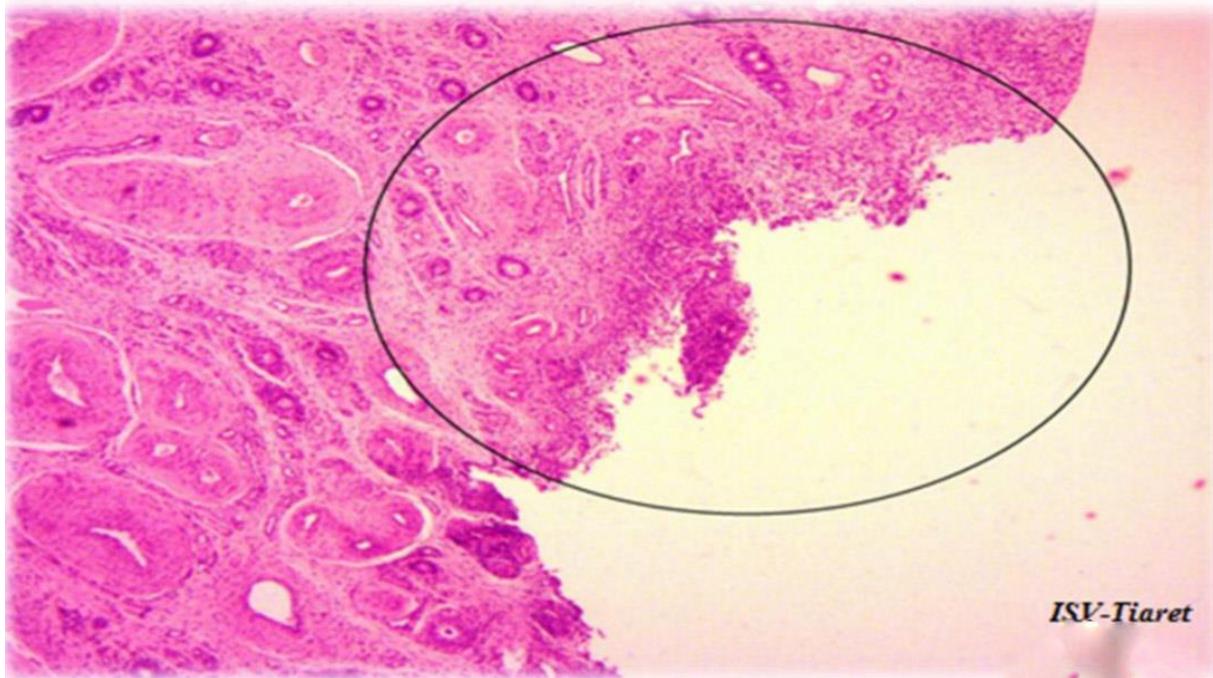
Certaines modifications de l'épithélium pouvaient être le reflet d'un processus inflammatoire, comme sa morphologie (aplatis, cubique ou hyperplasie de l'épithélium...) et son intégrité (absence totale, détaché de la membrane basale...), dans certains cas on a remarqué la présence de nombreux foyers ulcératifs (détachement de l'épithélium avec une perte de substance profonde (**Figure n° 52, n° 53 et n° 54**).



**Figure n°55 :** Vache, Coupe histologique de la corne gauche montrant une hyperplasie de l'épithélium (HE, 400X).



**Figure n° 56 :** Vache, Coupe histologique de la corne droite montrant un détachement de l'épithélium de la membrane basale vers la lumière (HE, 100X).

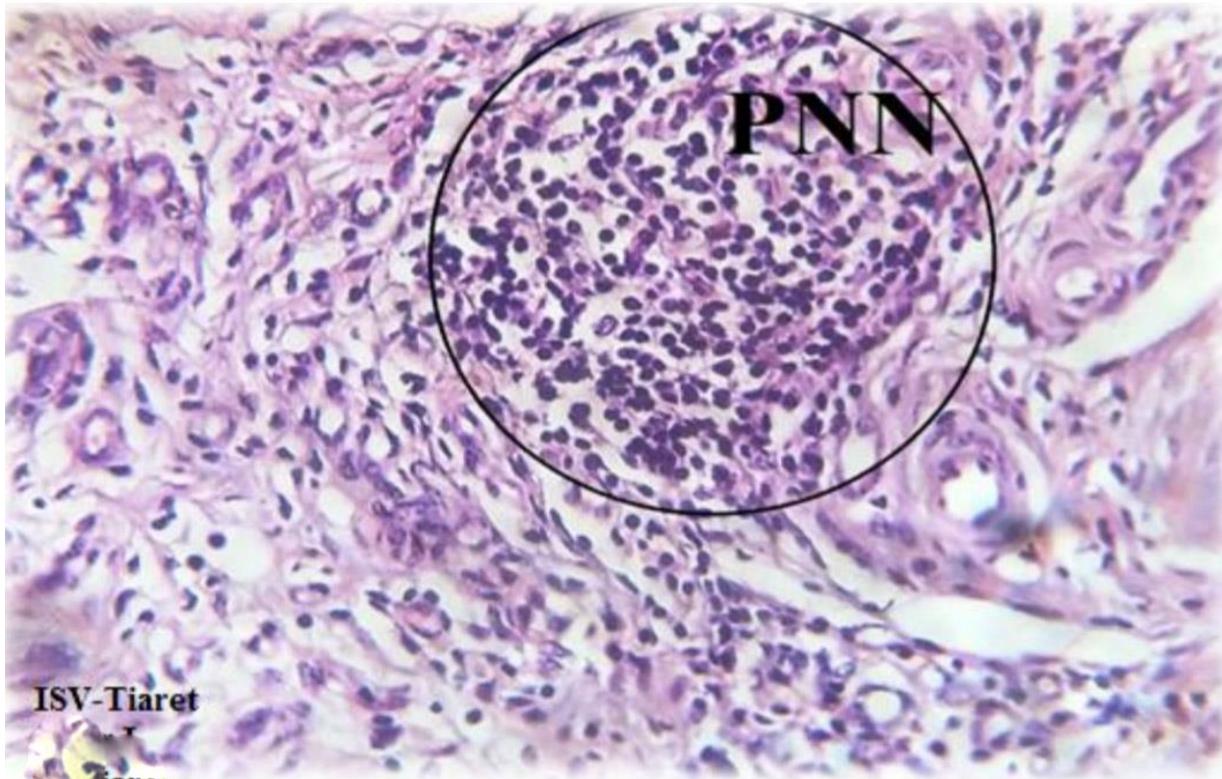


**Figure n° 57 :** Vache, Coupe histologique du corps utérin indiquant un foyer ulcératif (HE, 100X).

**a. Les couches profondes (*stratum compactum* et *stratum spongiosum*)**

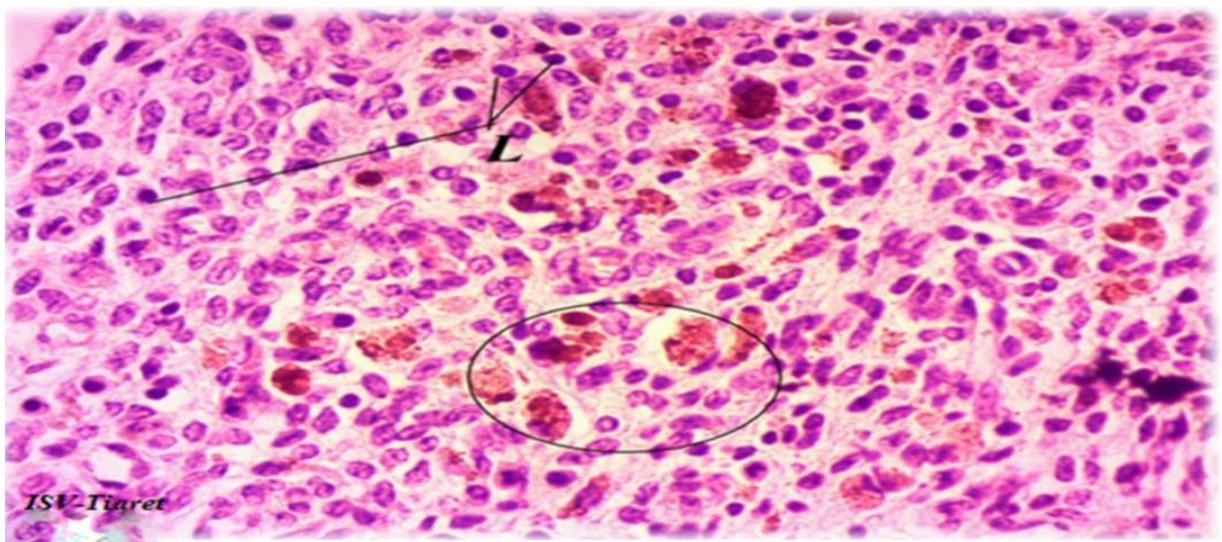
Le *stratum compactum* était caractérisé par un conjonctif lâche très riche en cellules (fibroblastes, macrophages, lymphocytes, éosinophiles) et plus en profondeur par un *stratum spongiosum* riche en fibres de collagène. Le stroma était infiltré par des cellules en provenance du sang (lymphocytes, granulocytes, plasmocytes). Il contenait aussi des vaisseaux sanguin et des glandes utérines, tubulaires, avec un épithélium en continuité avec celui de l'endomètre mais les cellules y étaient davantage sécrétrices (Barone, 1990).

Sur les 120 lames préparées pour cette étude, les lames de l'utérus (cornes et corps utérin) et cervix sont interprétables, dans la majorité du temps les couches profondes des quatre sites (cervix, corps utérin, corne droite et gauche) sont infiltrés par des éosinophiles et des neutrophiles indiquant une inflammation aiguë qui varie d'un grade léger, modéré jusqu'un grade sévère (**Figure n° 58**).



**Figure n° 58 :** Vache, Coupe histologique de a corne droite indiquant une infiltration sévère par les neutrophiles (HE, 400X).

Parfois ces couches sont infiltrées par des cellules mononucléées la plus part du temps des lymphocytes montrant une inflammation chronique (Figure n° 59).

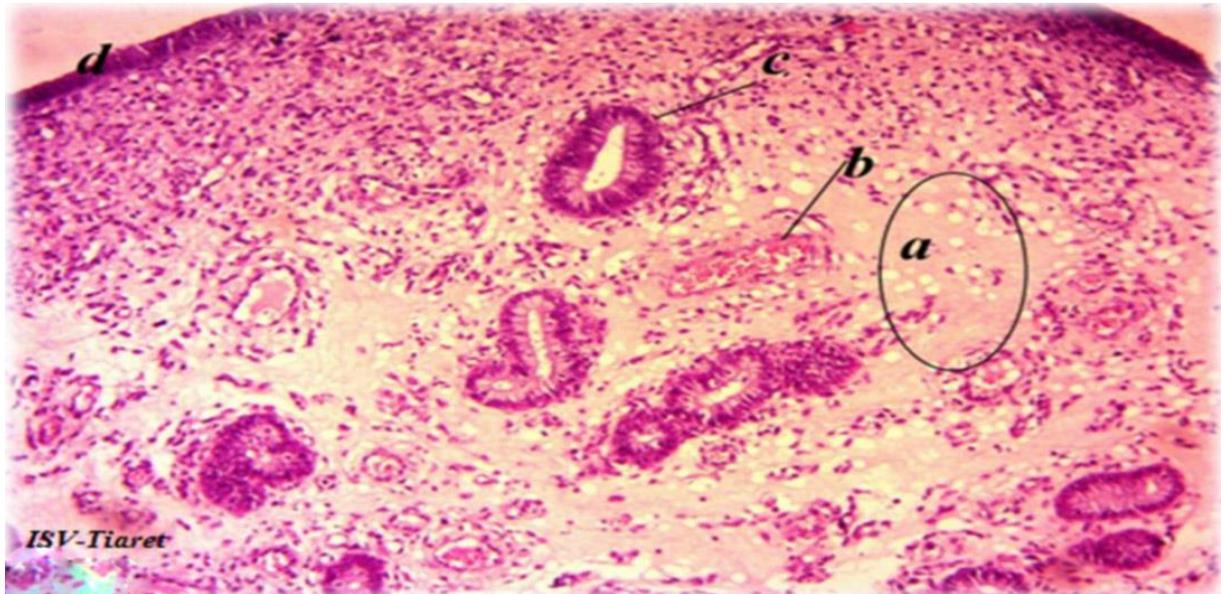


**Figure n° 59:** Vache, Coupe histologique de la corne gauche indiquant une infiltration par les lymphocytes et une imprégnation par l'hémosidérine (HE, 400X) : L : Lymphocytes.

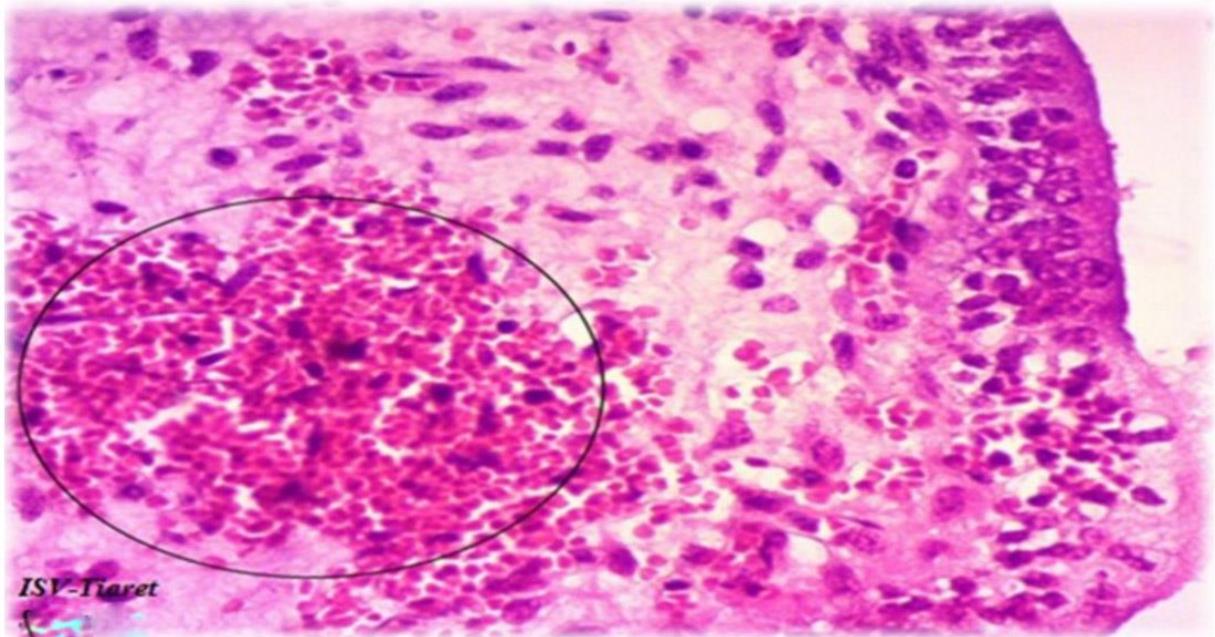
## Résultats

---

Dans certaines coupes histologiques on a noté une congestion, de l'œdème inflammatoire, de l'hémorragie et parfois étaient imprégnés par des pigments d'hemosidérine indiquant une ancienne hémorragie (Figure n° 60, n° 61).



**Figure n° 60** : Vache, Coupe histologique du corps utérin indiquant la présence d'œdème et de la congestion (HE, 100X): **a** : Œdème, **b** : Congestion, **c** : Glande utérine, **d** : Epithélium.

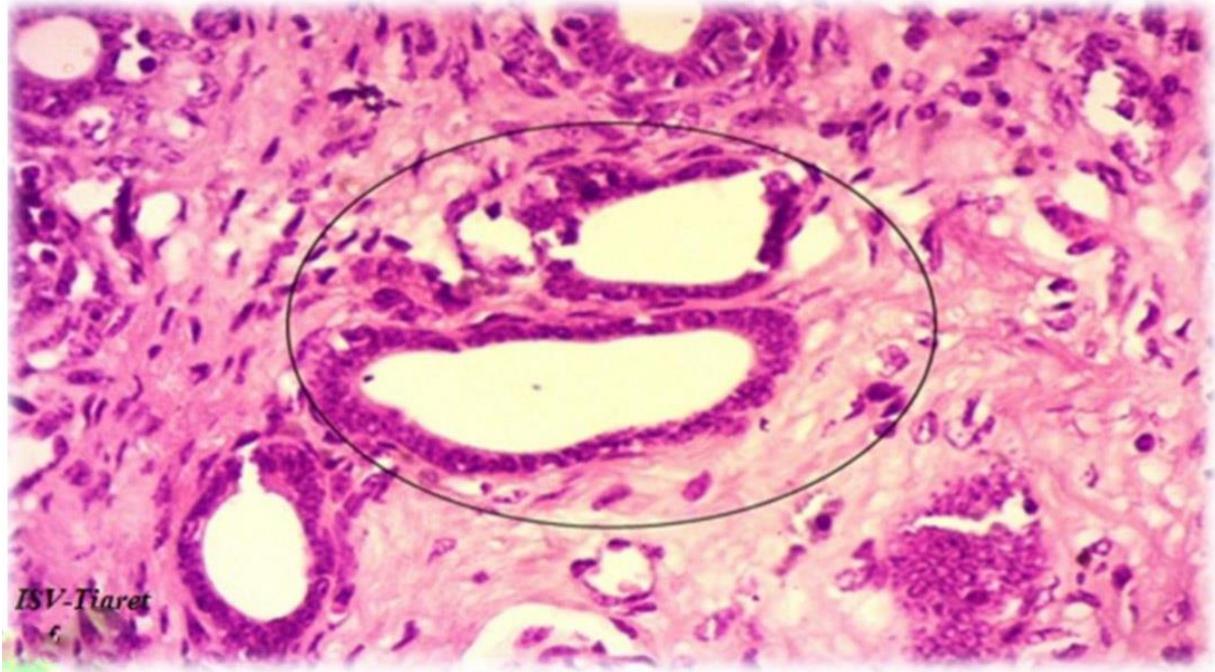


**Figure n° 61** : Vache, Coupe histologique de la corne gauche indiquant la présence de l'hémorragie (HE, 400X).

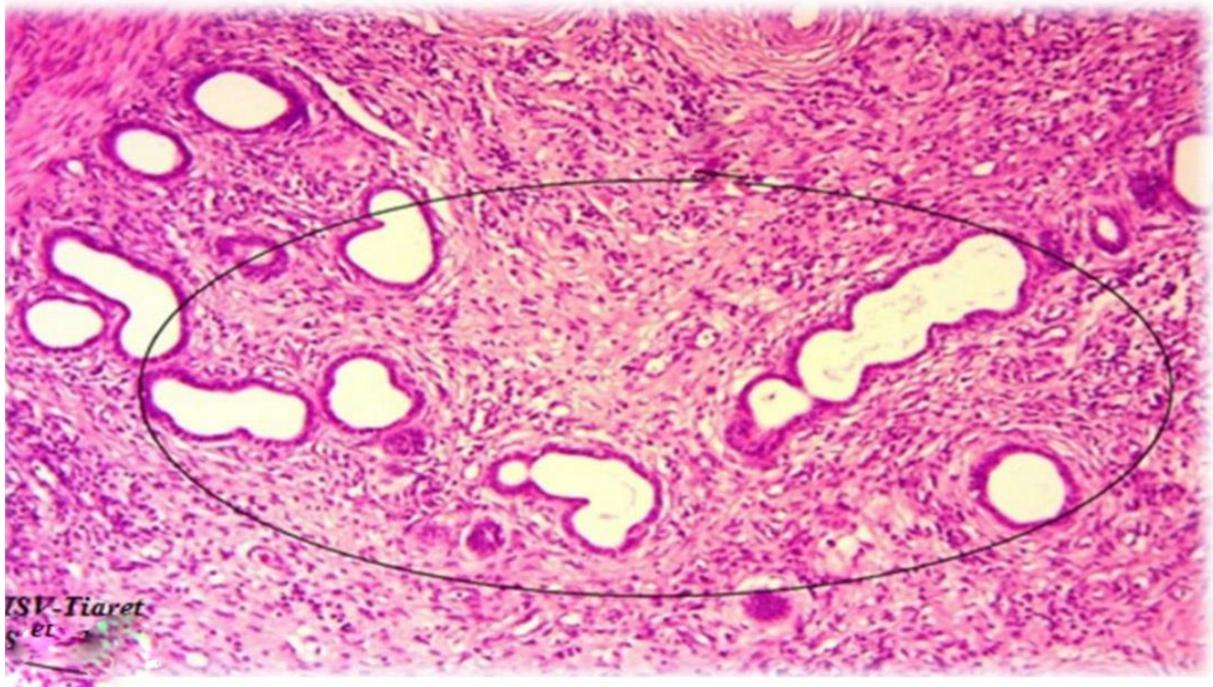
## Résultats

---

Pour les glandes utérines, parfois sont nombreuses mais la plus part du temps ont une densité modérée, présentaient un aspect soit normal dont le diamètre de la lumière inférieur à deux fois la hauteur des cellules épithéliales, soit dilatées dont le diamètre de la lumière supérieur deux fois la hauteur des cellules épithéliales, ou bien kystiques; ces dernières seraient très dilatées avec un épithélium aplatie hypoplasique (**Figure n° 62**).

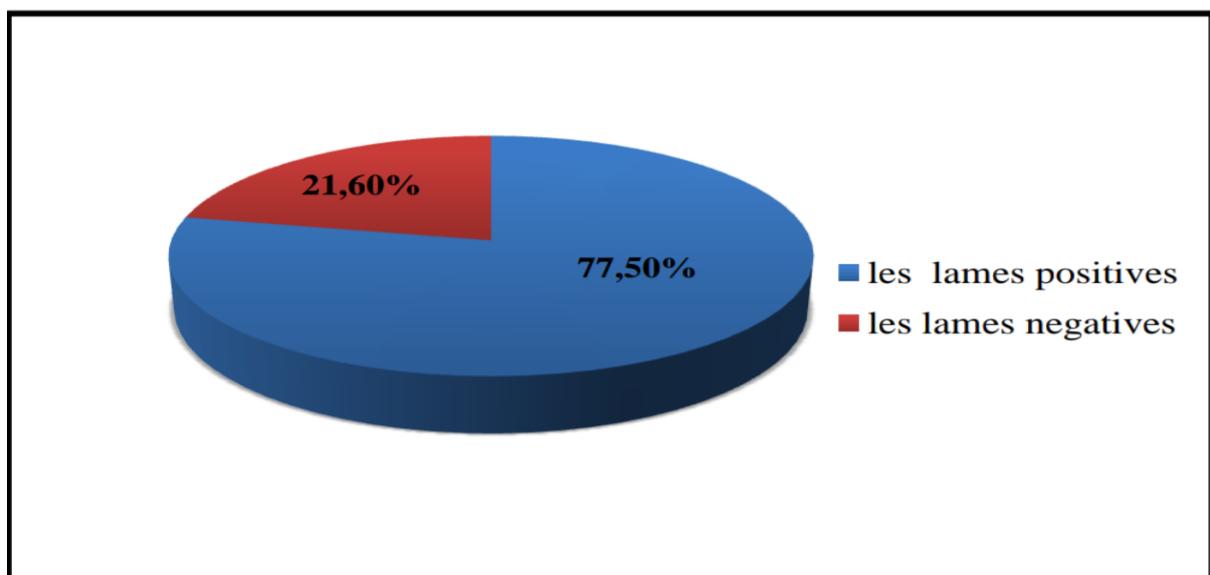


**Figure n° 62:** Vache, Coupe histologique de la corne gauche représentant un aspect des glandes dilatées (HE, 400X).



**Figure n° 63 :** Vache, Coupe histologique de la corne gauche représentant un aspect des glandes kystiques avec un épithélium aplati (HE, 100X).

**b. Evaluation quantitative du taux des neutrophiles par site**

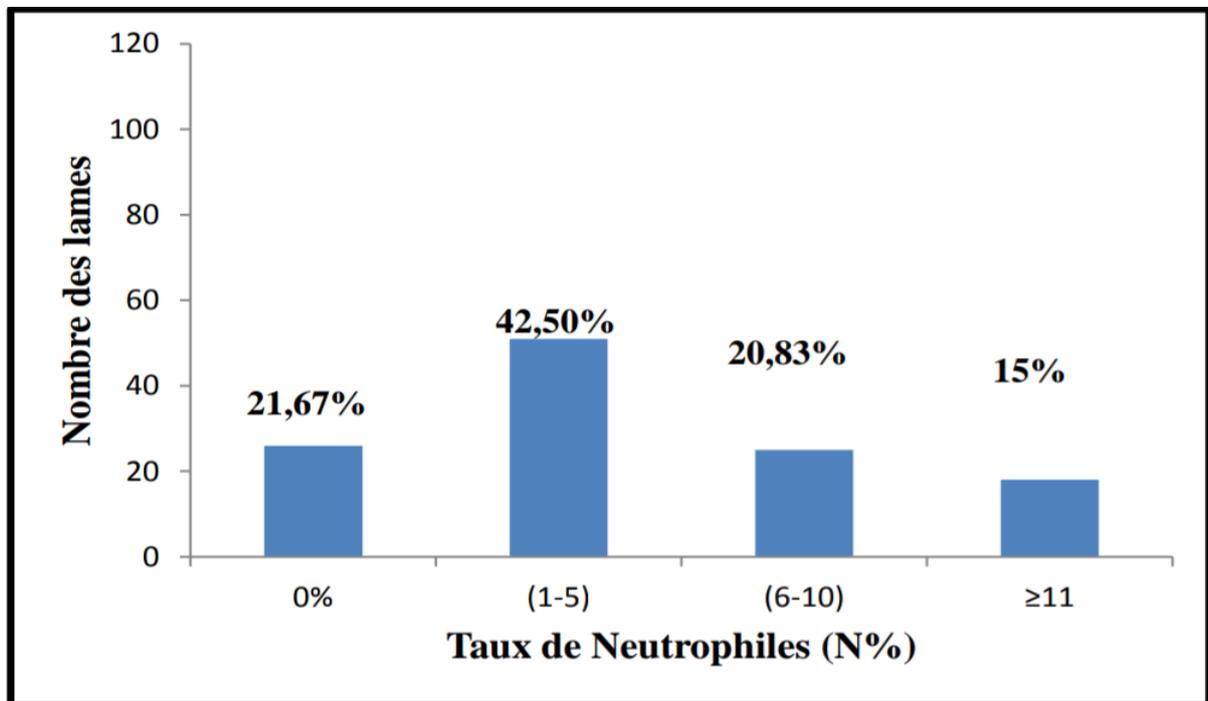


**Figure n° 64:** Nombre de lames positives et négatives.

## Résultats

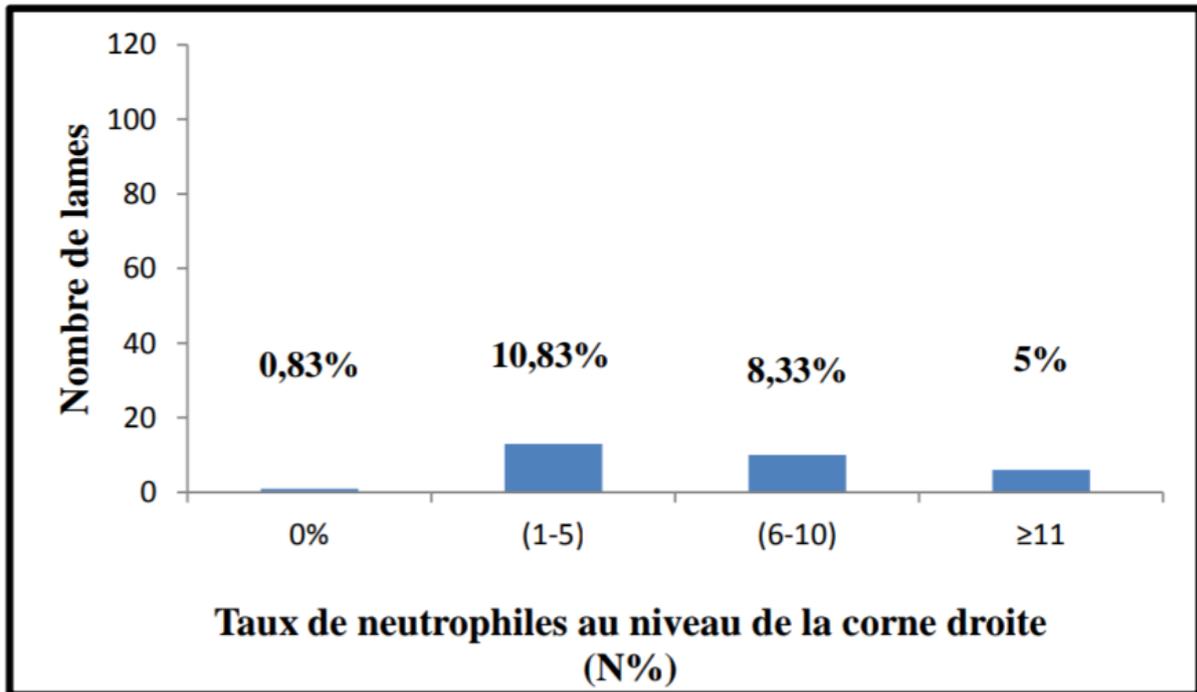
---

La figure ci-dessus présente le nombre de lames positives et négatives, on a remarqué que 77.50% des lames présentaient une réaction inflammatoire avec présence des PNN soit 94 lames et on a noté un pourcentage de 21.60% des biopsies négative soit 26 lames du nombre totale des biopsies.



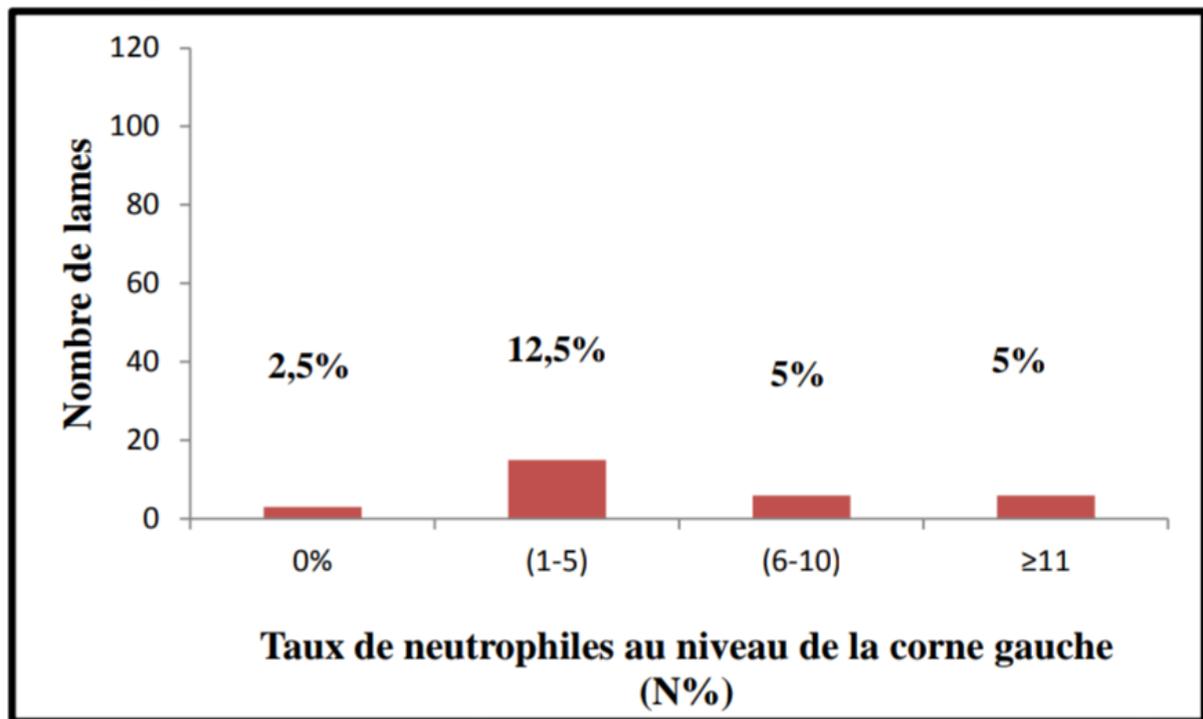
**Figure n° 65:** Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles.

Dans l'histogramme ci-dessus on a remarqué que 21.67% des lames ne présentaient pas (0%) de neutrophiles, par contre 42.50% des biopsies n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 20.83% des biopsies avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 15% soit 18 biopsies du nombre globale des lames.



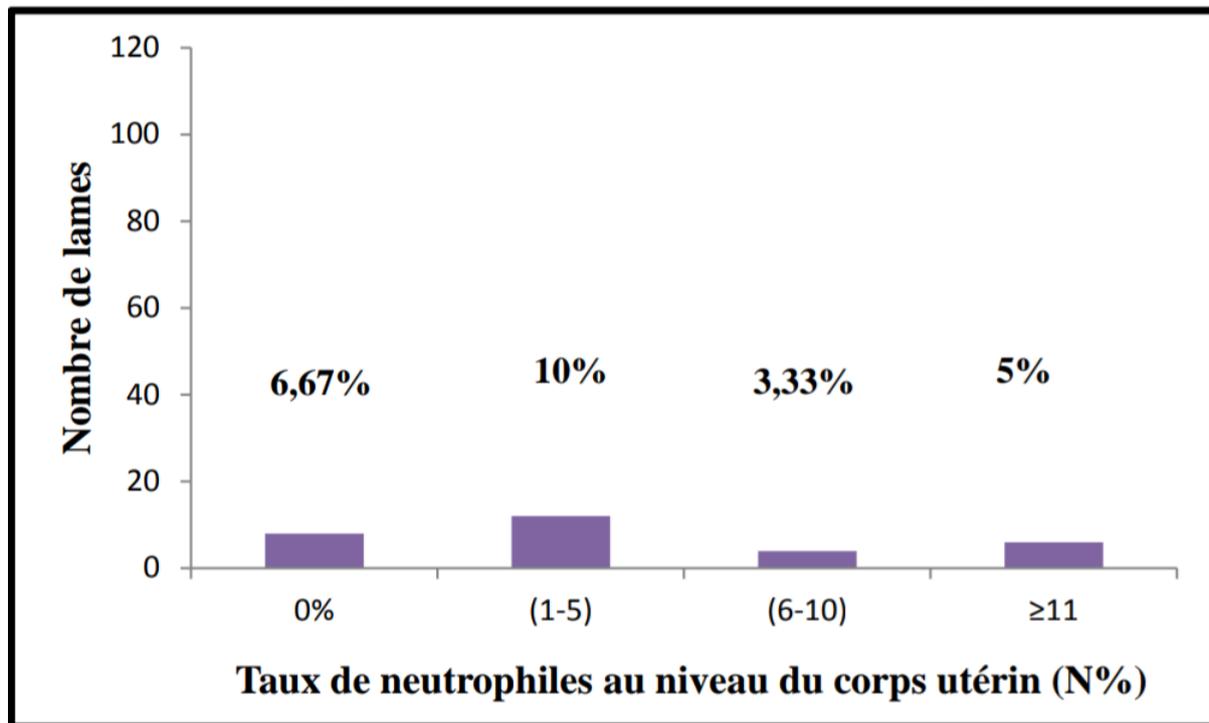
**Figure n° 66 :** Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite.

Dans l'histogramme ci-dessus qui représente la répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne droite, on a remarqué que 0.83% des lames ne présentaient pas (0%) de neutrophiles, par contre 10.83% des biopsies n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophile, 8.33% des biopsies avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 5% soit six biopsies du nombre globale des lames.



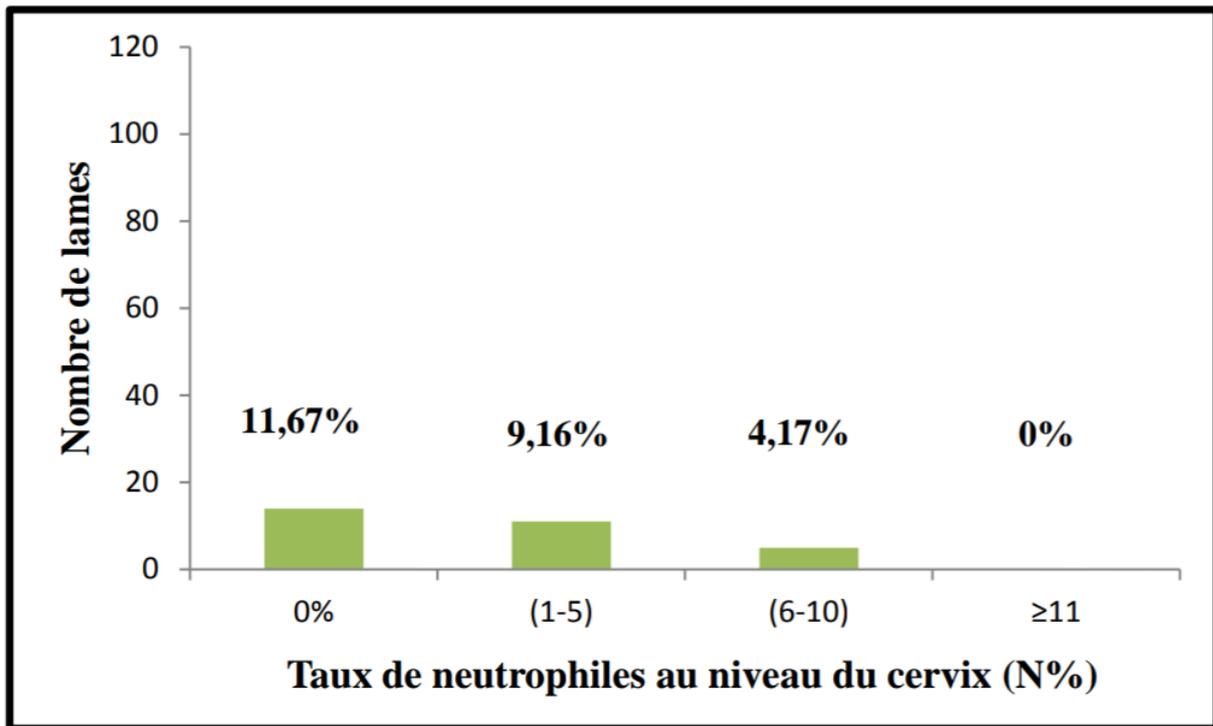
**Figure n° 67** : Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche.

Dans cet histogramme, qui représente la répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau de la corne gauche, on a remarqué que 2.5% des lames ne présentaient pas (0%) de neutrophiles, par contre 12.5% des biopsies n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 5% des biopsies avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 5% soit six biopsies du nombre globale des lames.



**Figure n° 68:** Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin.

Dans l'histogramme ci-dessus, représentaient la répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau du corps utérin, on a remarqué que 6.67% des lames ne présentaient (0%) de neutrophiles, par contre 10% des biopsies n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 3.33% des biopsies avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 5% soit six biopsies du nombre globale des lames.



**Figure n°69** : Répartition des biopsies en fonction du taux de neutrophiles au niveau du cervix.

Dans ce dernier histogramme qui présente la répartition des frottis en fonction du taux de neutrophiles au niveau du col utérin (cervix), on a remarqué que 11.67% des lames ne présentaient pas (0%) de neutrophiles, par contre 9.16% des biopsies n'avaient qu'un pourcentage de (1-5) % du taux de neutrophiles, 4.17% des biopsies avec un taux de (6-10)% et pour un taux de neutrophiles  $\geq 11\%$  on a noté que 0%.

### C. Analyse statistique entre les deux tests cytologique et histologiques

Dans l'échantillon de 30 vaches, le nombre de vaches présentant une inflammation était significativement plus importante que le nombre de vaches sans inflammation ( $p < 0.05$ ).

Pour les vaches positives, il n'y pas de différence significative entre le nombre de sites présentant de l'inflammation.

Il n'y a pas de différence significative entre les sites analysés tant au niveau de la fréquence d'inflammation que de son intensité avec un  $p > 0.05$ .

## Résultats

En conclusion, l'histologie a mis en évidence plus de vaches positives que la cytologie pour tous les sites pris ensemble et pour les sites pris séparément à l'exception du cervix.

D'autre part, l'étude de la concordance entre les méthodes a montré que celles-ci étaient significativement différentes pour tous les sites pris ensemble ainsi que pour les sites individuels à l'exception du cervix.

Pour la cytologie, il n'y a pas de différence significative ( $p=0.4$ ) pour le nombre de positifs par site. Pour l'histologie par contre, il existe une différence significative entre le nombre de positifs par site ( $p<0.01$ ). Pour cette dernière technique, c'est le cervix qui se montre significativement moins positif que les autres sites.

Le tableau ci-dessous résume ces résultats statistiques :

Site	Méthodes	Vache (+)	%IC (95%)	Vache (-)	%IC (95%)	P	Conclusion
Cervix	Cyto	10	33.3 (16.4-50.2)	20	66.7 (49.8-83.5)	0.2	Pas significatif
	Histo	16	53.3 (35.5-71.2)	14	46.7 (28.8-64.6)		
Corps utérin	Cyto	12	40 (22.5-57.5)	18	60 (42.5- 77.5)	0.02	Significatif
	Histo	22	71.3 (56.6-89.2)	8	26.7 (10.8-42.5)		
Corne gauche	Cyto	14	46.7 (28.8-64.6)	16	53.3 (35.5- 71.2)	<0.01	Très significatif
	Histo	27	90 (79.3-100)	3	10 (0- à 20.74%)		
Corne droite	Cyto	16	53.3 (35.5-71.2)	14	46.7 (28.8-64.6)	<0.01	Très significatif
	Histo	29	96.7 (90.2-100)	1	3.3 (0-9.8)		
Tous les sites	Cyto	20	66.7 (49.8-83.5)	10	33.3 (16.4-50.2)	0.02	Significatif
	Histo	28	93.3 (84.4-100)	2	6.7 (0-15.6)		

**Tableau n° 05** : Tableau représente les résultats statistiques : IC: Intervalles de confiance, **Cyto** : Cytologie, **Histo** : Histologie.

# Discussion

---

## III. Discussion

L'objectif de cette étude était d'appréhender, par la cytologie et l'histologie, d'une part l'homogénéité de l'inflammation au sein de l'appareil génital chez la vache et d'autre part, la corrélation entre les résultats donnés sur le statut inflammatoire de l'appareil génital par l'examen de référence (la cytologie) et par l'histologie.

### A. Protocole expérimental

#### 1. Constitution de l'échantillon d'étude

L'étude a été réalisée sur des utérus de bovins obtenus dans l'abattoir communal de la Wilaya de Tiaret. Parmi les contraintes rencontrées dans notre étude est la concordance de cette dernière avec la période où la fièvre aphteuse faisait des ravages ce qui a obligé les autorités à fermer le marché qui a influencé directement le pourcentage de vaches abattues à l'abattoir de plus une grande partie des vaches abattues (100 vaches) étaient soit gestantes (50 vaches), soit c'est des abattages sanitaires (tuberculique et brucellique avec un nombre de 20 vaches).

L'inconvénient de l'utilisation des utérus d'abattoir est la forte fréquence des cas sans inflammation (44,17% des frottis dans notre étude). Ainsi, cet échantillon est biaisé dans sa composition, il est donc impossible d'analyser les prévalences obtenues sur cet échantillon.

En particulier, la prévalence des frottis des corps utérin pathologique de 10% (12/30) dans notre étude est très inférieure à celle observée chez les vaches laitières qui oscillent entre 43 et 57% selon le moment du prélèvement (Deguillaume, 2010), 35% entre 20 et 33 JPP (Kasimanickam et al, 2004).

Par ailleurs, aucune donnée individuelle concernant l'animal (race, parité, note d'état corporel, production laitière, délai postpartum) n'était disponible. C'est une limite à l'analyse biologique des résultats. En effet, la présence des neutrophiles dans l'endomètre peut être le reflet d'une inflammation ou leur diapédèse physiologique au cours de la phase folliculaire du cycle ovarien (Dhaliwal et al, 2001) et les seuils pathologiques fixés en cytologie sont applicables sur un intervalle de temps connu (nombre de jours post-partum). Par ailleurs, le biais qu'il peut exister dans cette étude est la variation des données fournies par l'histologie et la cytologie à un même site donné puisque la biopsie serait influencée par le cycle œstral contrairement à la cytologie (Madoz et al, 2013). En effet, une étude menée par Deguillaume

## Discussion

---

et collaborateurs (2010) a démontré que le stade du cycle œstral n'avait aucun impact dans le diagnostic cytologique des endométrites subcliniques.

### 2. Préparation des lames d'histologie

La mise en pratique de la biopsie utérine est d'une part traumatique pour les tissus de l'endomètre (plus invasive que la cytologie) et d'autre part difficile à réaliser avec succès sur un tissu inflammatoire. Le prélèvement est une phase délicate qui affecte directement la qualité des lames (Sheldon, 2006).

### 3. La lecture des frottis et des coupes histologiques

#### a) Les frottis

Il a été montré que les neutrophiles constituaient la population leucocytaire dominante des frottis génitaux et que le taux de neutrophiles caractérisait le statut inflammatoire génital bovin (Deguillaume, 2010). Néanmoins, dans la littérature, une incertitude persiste pour définir la population cellulaire inflammatoire de l'appareil génital, car est employé le terme de « polymorphonucléaire » (PMN), or selon les auteurs ce terme désigne soit uniquement les neutrophiles, soit l'association neutrophiles-macrophages-lymphocytes. Il est donc pas évident de comparer les résultats des différentes publications (Daragon, 2011). Et parmi ces polymorphonucléaires, les neutrophiles représentent la population leucocytaire dominante des frottis génitaux (Daragon 2011).

#### b) Les biopsies

Dans la littérature, les auteurs ont utilisé chacun des grilles de lecture différentes avec des points de convergence tels que l'infiltration mononuclée et neutrophilique de l'épithélium et des couches profondes et la présence de nodules lymphoïdes. Ainsi, il est difficile de comparer les résultats entre publications.

## B. Résultats

### 1. Qualifier le statut inflammatoire

#### a. Les frottis

Bien qu'on ne connaisse pas le nombre de jours post-partum des vaches, nous avons toutefois maintenu les seuils pathologiques de 5% de granulocytes neutrophiles pour le col et

## Discussion

---

6% pour l'utérus à 21-35 jours post-partum en référence aux travaux de Deguillaume (2010) basés sur l'altération significative des performances de reproduction ultérieures. Avant cette étude, aucun seuil d'inflammation endocervicale n'avait encore été proposé dans la littérature. Concernant l'inflammation endométriale, le seuil de 6%N est proche de certains de ceux proposés dans d'autres études avant 35 jours post-partum (Kasimanickam et al, 2004 ; Gilbert et al, 2005 ; Barlund et al, 2008). A cette période post-partum, les seuils proposés dans la bibliographie varient de 6,5 à 18%N.

Si on s'éloigne du vêlage, le seuil pathologique diminue puisque l'appareil génital se débarrasse de l'inflammation. Ainsi, en période de mise à la reproduction, 7 jours avant l'insémination artificielle les seuils sont de 1%N pour l'utérus et 2%N pour le col. Nous avons donc choisi la valeur la plus élevée pour être sûr que l'utérus soit pathologique. Mais en corollaire, cela signifie que l'on est en dessous de la vérité (nous n'avons pas tenu compte de tous les utérus effectivement pathologiques). Il en est de même pour les appareils génitaux non pathologiques : nous avons pris 0% de neutrophiles pour être certain que ces frottis soient forcément issus d'appareils génitaux non pathologique, mais par voie de conséquence nous sous-estimons cette classe.

### **b. Les biopsies**

L'examen histologique ne permet pas réellement une évaluation quantitative du statut inflammatoire, mais une analyse qualitative. Néanmoins, avec la difficulté de trouver dans la littérature une gradation commune de l'inflammation entre les auteurs, il n'est pas aisé d'affecter un statut inflammatoire à une coupe histologique. Et ce d'autant plus, qu'aucune étude n'a analysé le lien entre les résultats d'une biopsie utérine et les performances de reproduction de la vache biopsiée. Ainsi, l'attribution d'une note histologique à chaque prélèvement s'est appuyée sur les gradations de certains auteurs (Hartigan et al, 1972 ; Chapwanya et al, 2009) et notamment sur les témoins « d'inflammation » comme les leucocytes et les nodules lymphoïdes. Ces notes histologiques sont plus arbitraires que celles appliquées en cytologie. Overbeck et collaborateurs (2013) ont été également confrontés à ce problème dans l'espèce équine où ils ont fixé arbitrairement le seuil de 5 neutrophiles par champ au grossissement 400 sur 3 champs distincts au-dessus duquel la lame histologique est dite « inflammatoire » (aucune relation n'était établi avec les performances de reproduction).

## Discussion

---

### 2. Homogénéité de l'inflammation entre les différents secteurs génitaux

Les prélèvements cytologiques comme histologiques de différents sites de l'appareil génital bovin (col, corps utérin et les 2 cornes utérines) ont révélé que l'inflammation n'était pas homogène au sein du tractus bovin femelle. Cette hétérogénéité avait été observée en cytologie et nos résultats sont similaires à ceux trouvés par (Deguillaume, 2010) qui a mentionné que l'inflammation endométriale mesurée au niveau du corps et l'inflammation endocervicale sont hétérogène. Une étude menée par (Overbeck et al.2013) sur des juments confirme aussi qu'aucune différence significative n'existe dans le nombre de neutrophiles dénombrés au niveau utérin (corps utérin et cornes utérines) que ce soit par la cytologie ou par l'histologie, et ce à l'aide du coefficient kappa ( $p$  value = 0,78 pour la cytologie ;  $p$  value = 0,79 pour l'histologie).

Cette hétérogénéité peut s'expliquer par la position anatomique du col entre une cavité vaginale septique et une cavité utérine stérile, qui de plus constitue un obstacle physique à une contamination extérieure vers la lumière utérine. Par ailleurs, les différences entre les muqueuses cervicales et utérines peuvent expliquer une résolution non simultanée de la contamination bactérienne physiologique post-partum (Daragon, 2011). Par conséquent, d'un point de vue pratique on ne peut pas substituer le prélèvement cervical au prélèvement endométrial, bien que plus facile à réaliser.

L'hétérogénéité de certains paramètres au sein de l'appareil génital a été aussi démontrée par El-Sheikh et collaborateurs (2013) pour la température. Ainsi, un gradient de température a été mis en évidence, qui augmente progressivement en allant du vagin aux cornes utérines.

Par contre, le fait que le secteur utérin (corps et cornes utérines) soit homogène au niveau du statut inflammatoire n'est pas transposable pour tous les paramètres étudiés. Une étude menée par Trigal et collaborateurs (2014) a montré une hétérogénéité fonctionnelle au niveau moléculaire entre les deux cornes utérines au cours d'une gestation. En effet, les concentrations en hexoses (glucose et en fructose), les proportions de certaines protéines (albumine, fibrinogène ...) diffèrent entre ces 2 cornes au début du développement embryonnaire, sans pour autant altérer les taux de gestation mais agissant sûrement sur la régulation du développement embryonnaire.

La constitution cellulaire des frottis endométriaux était semblable à celle des frottis endocervicaux. Les prélèvements de notre étude étaient réalisés au niveau du deuxième

## Discussion

---

anneau du col. Ahmadi et collaborateurs (2005) sont les seuls à avoir comparé la composition des frottis endocervicaux et endométriaux. La composition cellulaire de ces deux types de frottis (cellules épithéliales, neutrophiles, macrophages et lymphocytes) semblait également identique. Chez la plupart des mammifères, seule la partie externe du col (l'orifice postérieur du col) est composée d'un épithélium squameux, similaire à celui qui tapisse le vagin. Le reste du canal cervical (dont le deuxième anneau) et l'orifice antérieur du col sont constitués d'un simple épithélium uni stratifié, semblable à celui de l'endomètre (Couto et Hughes, 1984).

Dans notre étude, les neutrophiles constituent la population leucocytaire dominante des frottis génitaux. Des lymphocytes, monocytes et granulocytes éosinophiles étaient parfois retrouvés, alors que les granulocytes basophiles étaient quasi-absents de toutes les lames. Pour Ahmadi et collaborateurs (2005), les neutrophiles constituaient  $86 \pm 1\%$  des leucocytes endocervicaux et  $90 \pm 1\%$  des leucocytes endométriaux.

La concordance entre les proportions des différentes sous-populations leucocytaires était médiocre. Seule la proportion de neutrophiles était fortement associée à celle des leucocytes totaux. Cette observation suggère que les taux de neutrophiles ou de leucocytes totaux peuvent être utilisés indifféremment pour caractériser le statut inflammatoire. Les neutrophiles constituent la population cellulaire majeure qui afflue dans la muqueuse lors de processus inflammatoire. Ceci est cohérent avec les observations de (Chapwanya et al, 2009) qui ont suivi l'expression moléculaire de marqueurs des cellules hématopoïétiques, notamment des neutrophiles (CD45) et des cellules myéloïdes (CD14). Lors d'inflammation histologique de l'utérus post-partum, une augmentation de l'expression du gène codant pour la protéine CD45 signale un afflux de leucocytes dans l'utérus, majoritairement sous forme de neutrophiles. L'expression de CD14 n'étant pas significativement différente selon les niveaux d'inflammation, l'afflux de monocytes n'est pas une caractéristique de l'inflammation endométriale.

La présence d'érythrocytes en grande quantité sur la lame était associée à une augmentation du taux de neutrophiles, ainsi que du taux de lymphocytes et parfois de monocytes. L'infiltration de la muqueuse par des cellules sanguines provenant de la circulation générale peut justifier l'identification de lymphocytes, composant leucocytaire majoritaire de la formule sanguine des bovins (Jones et Allison, 2007). La présence de neutrophiles pourrait s'expliquer par une contamination sanguine accrue ou une fragilisation de la muqueuse en cas

## Discussion

---

d'endométrite ou de cervicite. La phase du cycle œstral et notamment l'œstrus peuvent être à l'origine d'une hyperhémie et d'une plus grande fragilité capillaire (Couto et Hughes, 1984). Mais contrairement aux résultats d'Ahmadi et collaborateurs (2006b), la phase lutéale n'était ici pas associée à une modification de la proportion de neutrophiles.

Notre travail est similaire aux deux études (Déguillaum, 2010) ex vivo et in vivo d'examen cytologique qui ont révélé la non homogénéité de l'inflammation dans le tractus génital femelle. Néanmoins, il est regrettable que dans l'étude ex vivo une majorité d'utérus aient présenté une inflammation nulle en leurs quatre sites de prélèvement, ceci en raison de l'absence de sélection des animaux à l'abattoir, par défaut de traçabilité entre l'utérus et l'animal ; ces résultats sont similaires à nos résultats. Les utérus constituant des sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine (matière de catégorie 3), non identifiés comme matériels à risque spécifiés en tant que tissus susceptibles de véhiculer un agent infectieux, ne sont pas soumis à une identification individuelle. Aucune information n'a permis de caractériser les bovins abattus, selon leur race, âge ou motif de réforme. Même si un tri des utérus sur la base de leur taille anatomique était effectué afin d'exclure les tractus génitaux de génisses, notre échantillon a probablement été constitué de jeunes vaches ou de femelles en fin de lactation, très éloignés du moment du vêlage, ce qui a sans doute eu une influence sur la proportion de neutrophiles des frottis (Bonnett et al, 1991) ceci est similaire à notre étude.

Les coefficients de concordance n'ont pas révélé de forte dépendance entre les quatre sites (col, corps et cornes) anatomiquement et biologiquement proches. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Ahmadi et collaborateurs (2006b) sur des utérus de brebis. Dans notre étude, la meilleure concordance était observée entre le corps utérin et la corne gauche, sans explication biologique

# Conclusion Générale

---

## Conclusion Générale

Aujourd'hui les vétérinaires sont de plus en plus sollicités en élevage pour des baisses de fertilité et de fécondité. Outre la conduite d'élevage et le rationnement, ils doivent s'intéresser à la santé utérine.

Les endométrites cliniques et subcliniques entrent largement en compte dans la baisse des paramètres de reproduction chez la vache. Elles entraînent un allongement de la phase lutéale, un anoestrus, ou une mort embryonnaire par incapacité d'accueil de l'embryon. L'endomètre est parfois très touché, les lésions allant d'un aspect normal à une fibrose périglandulaire sévère, pouvant conduire à une longue phase de stérilité et donc des pertes économiques importantes pour l'éleveur.

D'après nos résultats, nous concluons que la cytologie est moins sensible au diagnostic des réactions inflammatoires de l'endomètre chez les vaches par rapports à l'histopathologie. Les cellules polymorphonucléaires ont une distribution inégale dans tout l'endomètre ; en plus les PMN ont été trouvés dans la couche compacte profonde que dans l'épithélium adjacent.

Bien que la cytologie s'avère donner des résultats du même ordre que l'examen histologique, la corrélation entre ces deux examens est médiocre.

L'examen cytologique est plus facile que l'utilisation des biopsies. Il est considéré depuis quelques années chez la vache, comme technique de référence, fiable, rapide et non coûteuse pour l'évaluation du statut inflammatoire utérin ou cervicale et même si l'histologie se révélait de meilleure valeur diagnostique, cet examen présente plusieurs inconvénients en pratique : une plus grande difficulté du prélèvement par rapport à la cytologie, le délai nettement supérieur pour l'obtention des résultats ainsi que la nécessité d'un envoi à un laboratoire spécialisé et le coût élevé de l'analyse.

# Recommandations

---

## Recommandations

- ❖ A l'issue de cette étude, il ressort l'intérêt de prélever à la fois le col et le corps utérin si on souhaite avoir un aperçu global du statut inflammatoire de l'appareil génital.
  
- ❖ La cytologie est un examen de référence car objectif, répétable, fournissant un résultat quantitatif, utilisable in vivo et ex vivo et garantissant une totale innocuité pour la fertilité ultérieure des animaux.
  
- ❖ L'histologie est un examen qui aurait pu être choisi en pratique car il est très performant pour le diagnostic des endométrites et apporte des renseignements plus complets sur le statut inflammatoire de l'endomètre, mais son coût élevé ainsi le délai d'obtention du résultat et sa mise en pratique délicate rendent son emploi sur le terrain difficile.
  
- ❖ Au niveau expérimental, l'histologie garde néanmoins une place fondamentale pour à la fois valider ou infirmer les résultats cytologiques et pour affiner les changements physiologiques et pathologiques de l'utérus.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Adams G.P., Jaiswal R., Singh J. et Malhi P. (2008).** Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. janvier 2008. Vol. 69, n° 1, p. 72-80.
- ❖ **Aerts Jmj et Bols Pej. (2010).** Ovarian Follicular Dynamics. A review with Emphasis on the Bovine Species. Part II: Antral Development, Exogenous Influence and Future Prospects. *Reproduction in Domestic Animals*. février 2010. Vol. 45, n° 1, p. 180-187.
- ❖ **Ahmadi M.R., Nazafi S., Ghaisari H.R. (2006a).** Comparison of hormonal changes of estrus cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp Clin Pathol.*, 15, 94-7.
- ❖ **Ahmadi M.R., Nazafi S., Ghaisari H.R. (2006b).** Comparative cervical cytology and conception rate in postpartum dairy cows. *Veterinarski archiv.*, 76(4), 323-32.
- ❖ **Ahmadi M.R., Nazafi S., Khodakaram Tafti A. (2004).** Cytological studies of uterus and uterine cervical mucosa by swab and aspiration methods in cows. *J Fac Vet Med Univ Teheran.*, 59, 360-6.
- ❖ **Ahmadi M.R; Khodakaram Tafti. A; Nazifi. S; Ghaisari H.R. (2005).** The comparative evaluation of uterine and cervical mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. *Comp. Clin. Pathol*, 14, 90-94.
- ❖ **Ahmadi M.R; Nazifi. S. (2006c).** Evaluation of reproductive status with cervical and asymmetry in the cow. *Reprod fertility and development*, 26, 493-501.
- ❖ **Bacha William. J; Bacha Linda. M. (2000).** Color atlas of veterinary histology. Second edition. Wiley.
- ❖ **Ball, Peter J. H., Peters, Andy R. (2008).** *Reproduction in Cattle*. 3rd edition. Blackwell Publishing, Oxford, 242p.
- ❖ **Barlund. C. S; Carruthers. T. D; Waldner. C. L. et Palmer. C. W. (2008).** A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, 69(6), 714-723. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.12.005
- ❖ **Barone R. (1990).** Anatomie comparee des mammiferes domestiques. Tome 4, splanchnologie II, vigot, 268-447, Lyon.
- ❖ **Barone Robert. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. 3ème édition. Tome 4. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Fœtus et ses annexes. Péritoine et topographie abdominale. Vigot, Paris, 896p.
- ❖ **Barone. R. (2010).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. 4e édition. Tome premier, Ostéologie. Paris, France : Éditions Vigot.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Blaise.E. (1998).** Contribution à l'étude de l'involution utérine chez la vache laitière et chez la brebis. Action du Wombyl ND après césarienne. Thèse doc.vet. Alfort, 57 p.
- ❖ **Bondurant. R.H. (1999).** Animal Health 2: Inflammation and Animal Health. Inflammation in the bovine female reproductive tract. J Anim Sci., 77 Suppl 2, 10110.
- ❖ **Bonnett. B.N; Miller. R; Martin. S.W; Etherington. W.G; Buckrell. B.C. (1991b).** Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows II. Correlations between histological criteria. Can J Vet Res., 55, 162-7.
- ❖ **Braun. N. S; Heath. E; Chenault. J. R; Shanks. R. D. et Hixon. J. E. (1988).** Effects of prostaglandin F2 alpha on degranulation of bovine luteal cells on days 4 and 12 of the estrous cycle. American Journal of Veterinary Research. avril 1988. Vol. 49, n° 4, p. 516-519.
- ❖ **Bretzlaff. K. (1987).** Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow. Vet Clin North Am Food Anim Pract., 3, 593-607.
- ❖ **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; Doherty M.L; Callanan J.J; Mee J.F; O'Farrelly. C. (2009).** Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. Theriogenology, 71, 1396-1407. Comp Clin Pathol, 15, 94-97.
- ❖ **Chapwanya. A; Meade. K. G; Narciandi. F; Stanley. P; Mee. J. F; Doherty. M. L; O'Farrelly. C. (2010).** Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. Theriogenology, 73(7), 988-994. doi: DOI 10. 1016/j.theriogenology. 2009.11.015.
- ❖ **Charki. (2009).** <http://vetofocus.com>. Consulter le 27 /04/2019.
- ❖ **Chastant-Maillard. S ; Fournier. R et Remmy. D. (2005).** Actualités sur le cycle de la vache. Le Point Vétérinaire. 2005. Vol. 36, p. 10-15.
- ❖ **Chastant-Maillard.S et Duffin. M. (2008).** Traitement des endométrites chez la vache: prostaglandines ou pas prostaglandines, là est la question. Journées Nationales des GTV. Nantes, 27, 28, 30 Mai.
- ❖ **Bonnett BN, Miller RB, Etherington WG, Martin SW, Johnson WH. (1991a).** Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. Can. J. Vet. Res., 55, 155-161.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **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.
- ❖ **Coche et al, (1987)** cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, 68, 395-402.
- ❖ **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.
- ❖ **Coche. B; Le Coustumier. J.; Zundel E. (1987).** L'involution uterine. *Bull. GTV*, 872-B-304, 43-67.
- ❖ **Couto M.A; Hughes J.P. (1984).** Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare. *J. Equine Vet. Sci.*, 4, 265-273.
- ❖ **Daragon B. (2011).** L'inflammation génitale chez la vache : comparaison de l'état inflammatoire des différents compartiments. Thèse Doct Vet ENVA, 72.
- ❖ **David. E. Noakes; Timothy J. Parkinson; Gary C. W. England. (2019).** *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 10eme edition: Copyright © 2019 by Elsevier China. Chap 23 The Metritis Complex in Cattle.424p
- ❖ **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.
- ❖ **De Bois. C.H.W; Manspeaker. J. (1980).** Endometrial biopsy of the bovine. In: Morrow DA, editor. *Current therapy in theriogenology*. WB Saunders Compagny, Philadelphia, 424-6.
- ❖ **Deguillaume. L ; Chastant-Maillard. S. (2009).** Comment bien diagnostiquer les endometrites de la vache. *Bulletin des GTV*, 49, 101-105.
- ❖ **Deguillaume. L ; Chastant-Maillard. S. (2012).** Physiopathologie et diagnostic des infections utérines chez la vache. *Le Nouveau Praticien*, 5 (21), 19-23.
- ❖ **Deguillaume. L ; Pineau C ; Choukroun H ; Fournier R ; Chastant-Maillard S. (2010).** Influence of the oestrus cycle stage on post-partum endometrial inflammation in the cow. *Reprod. Dom. Anim*, 45 (suppl 3), 45.
- ❖ **Deguillaume. L. (2007).** Etude comparative des différentes techniques de diagnostic des métrites chroniques chez la vache. *These Med. Vet.*, Alfort, 108p.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Deletengue. F. (1981).** Rappels d'anatomie et de physiologie. PRID, Edition Sanofi Santé Animale, 9-16 p.
- ❖ **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.
- ❖ **Dizien. A. (2008).** Etude interspécifique des cytologies génitales pour le diagnostic de l'endométrite, intérêt diagnostique chez la vache. Thèse Med. Vet, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, A 2008 088, Maisons-Alfort.
- ❖ **Dobson. H; Walker. S. L; Morris. M. J; Routly. J. E. et Smith. R. F. (2008).** Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? *Animal : an international journal of animal bioscience.* août 2008. Vol. 2, n° 8, p. 1104-1111.
- ❖ **Donofrio G; Herath S; Sartori C; Cavirani S; Flammini C.F; Sheldon I.M. (2007).** Bovine herpesvirus 4 is tropic for bovine endometrial cells and modulates endocrine function. *Reproduction*, 134, 183-97.
- ❖ **Dorniak. P; Bazer. F. W. et Spencer. T. E. (2013).** Physiology and Endocrinology Symposium: Biological role of interferon tau in endometrial function and conceptus elongation. *Journal of Animal Science.* 1 avril 2013. Vol. 91, n° 4, p. 1627-1638.
- ❖ **Drillich. M; Wittke M; Tenhagen B.A; Unsicker C; Heuwieser W. (2005).** Treatment of chronic endometritis in dairy cows with cephalosporin, prostaglandin or a combination of both. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Grosstiere – Nutztiere*, 33, 404-410.
- ❖ **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.* 93:5225–5233.
- ❖ **Edson. Mark. A; Nagaraja. Ankur. K. et Matzuk. Martin. M. (2009).** The Mammalian Ovary from Genesis to Revelation. *Endocrine Reviews.* 1 octobre 2009. Vol. 30, n° 6, p. 624-712.
- ❖ **El-Sheik Ali H; Kitahara G; Tamura Y; Kobayashi I; Hemmi K; Torisu S; Sameshima H; Horii Y; Zaabel S; Kamimura S. (2013).** Presence of a temperature gradient among genital tract portions and the thermal changes within these portions over the estrous cycle in beef cows. *J. Reprod. Dev* 59, 1, 59-65.
- ❖ **Evans. Aco. (2003).** Characteristics of Ovarian Follicle Development in Domestic Animals. *Reproduction in Domestic Animals.* août 2003. Vol. 38, n° 4, p. 240-246.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Feldmann. M; Tenhagen Genannt Emming. S; Hoedemaker. M. (2005).** Treatment of chronic bovine endometritis and factors for treatment success. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 112(1), 10-6.
- ❖ **Ferris. Heather. A. et Shupnik. Margaret. A. (2006).** Mechanisms for Pulsatile Regulation of the Gonadotropin Subunit Genes by GNRH1. Biology of Reproduction. 1 juin 2006. Vol. 74, n° 6, p. 993-998.
- ❖ **Florence Battelier; Marina Gorovoun; et al. (2006).** Reproduction des animaux d'élevage, 2eme edition: Educagri, Paris. Chap1 : l'anatomie et la physiologie de la reproduction : l'anatomie de l'appareil reproducteur femelle, 18 p.
- ❖ **Foldi J., Kulcsar M., Pecs A., Huyghe B., de Sa C., Lohuis JA., Cox P, Huszenicza G. (2006).** Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. Anim Repro Sci., 96(3-4), 265-81.
- ❖ **Forde. N; Beltman. M. E ; Lonergan. P ; Diskin. M; Roche. J. F. et Crowe. M. A. (2011).** Oestrous cycles in Bos taurus cattle. Animal Reproduction Science. avril 2011. Vol. 124, n° 3-4, p. 163-169.
- ❖ **Fourichon C ; Bareille N ; Malher X. (2004).** Fréquence et conséquence des métrites. L'action vétérinaire, 2-6.
- ❖ **Fournier R ; Chastant-Maillard S. (2006).** Traitement des métrites chroniques de la vache. Point vét., 37, 122-8.
- ❖ **Frandsen. Rowen. D; Wilke. W. Lee; Fails; Anna Dee. (2009).** Anatomy and Physiology of Farm Animals. 7th edition. Wiley-Blackwell, Ames, 512p.
- ❖ **Frazier K.S; Baldwin C.A; Pence M; West J; Bernard J; Liggett A; Miller D; Hines M.E. 2nd. (2002).** Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic bovine herpesvirus-4. J Vet Diagn Invest, 14, 457-62.
- ❖ **Freetly. H. C; Kuehn. L. A. et Cundiff. L. V. (2011).** Growth curves of crossbred cows sired by Hereford, Angus, Belgian Blue, Brahman, Boran, and Tuli bulls, and the fraction of mature 120 body weight and height at puberty. Journal of Animal Science. août 2011. Vol. 89, n° 8, p. 2373-2379.
- ❖ **Galvao K.N; Greco L.F; Vilela J.M; Sa Filho M.F; Santos J.E. (2009).** Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. J. Dairy Sci., 92, 1532-1542.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Gasser. C.L. (2013).** JOINT ALPHARMA-BEEF SPECIES SYMPOSIUM: Considerations on puberty in replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*. 1 mars 2013. Vol. 91, n° 3, p. 1336–1340.
- ❖ **Gautam. G; Nakao. T; Yusuf. M; Koike. K. (2009).** Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two Japanese dairy herds. *Anim Reprod Sci*. 116, 175-187.
- ❖ **Gilbert. R.O; Shin. S.T; Guard. C.L; Erb. H.N; Frajblat. M. (2005).** Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64, 1879-88.
- ❖ **Goff. Alan. K. (2004).** Steroid Hormone Modulation of Prostaglandin Secretion in the Ruminant Endometrium During the Estrous Cycle. *Biology of Reproduction*. 1 juillet 2004. Vol. 71, n° 1, p. 11-16.
- ❖ **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.
- ❖ **Gordon. I. (1996).** Controlled reproduction in farm animals. Volume 1. Controlled reproduction in cattle and buffaloes. CAB International, Wallingford, 492p.
- ❖ **Hafez. E. S. E. et Hafez. B. (2000).** Reproduction in Farm Animals. 7eme Edition. Lippincott Williams et Wilkins, Philadelphia, 509p.
- ❖ **Han. I.K et Kim. I.H. (2005).** Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J Vet Sci.*, 6, 53-9.
- ❖ **Hanzen. C. (2009).** Les infections utérines chez la vache. Cours de reproduction bovine. Belgique.
- ❖ **Hanzen. C. (2010).** La propédeutique de l'appareil génital femelle des ruminants. Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire, Service de Thériogenologie des animaux de production, <http://orbi.ulg.ac.be/>.
- ❖ **Hanzen. C. (2012-2013).** Les infections utérines chez la vache. Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service de Thériogénologie des animaux de production, 2012-2013, <http://orbi.ulg.ac.be/>, 25-10-2013.
- ❖ **Harvey. D. et Vaillancourt. D. (2003).** « Vidéos en diffusion progressive. Animaux de la ferme. Système reproducteur. Bovin ». Consulté le 24/04/2019. Disponible sur <http://www.medvet.umontreal.ca/video/mediatheque/francais/ferme/reproducteur.htm>

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Hendricks.K.E; Bartolome. J.A; Melendez. P; Risco. C; Archbald L.F. (2006).** Effect of repeated administration of PGF<sub>2</sub>alpha in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 65(8), 1454-64.
- ❖ **Hirsbrunner. G; Kupfer. U; Burkhardt. H; Steiner. A. (1998).** Effect of different prostaglandins on intrauterine pressure and uterine motility during diestrus in experimental cows. *Theriogenology*, 50(3), 445-455.,
- ❖ **Hopper. R. M. (2014).** *Bovine Reproduction*. Wiley-Blackwell, Ames, 816p.
- ❖ **Husted. J. R. (2003).** Bacterial and fungal organisms in the vagina of normal cows and cows with vaginitis. Master's thesis, Texas A&M University. Texas A&M University.
- ❖ **Jeremejeva. J; Orro. T; Valdmann. M; Kask. K. (2010).** Bacteriological and cytological findings during the late puerperal period after two different treatments of retained placenta followed by acute puerperal metritis. *Acta Vet Scand*, 52, 41.
- ❖ **Kasimanickam R; Duffield T; Foster R.A; Gartley C.J; Leslie K.E; Walton J.S; Johnson W.H. (2004).** Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62, 9-23.
- ❖ **Kasimanickam. R; Duffield. T; Foster. R. A; Gartley. C. J; Leslie. K. E; Walton. J. S; Johnson. W. H. (2005a).** 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.
- ❖ **Kasimanickam. R; Duffield. T; Foster. R. A; Gartley. C. J; Leslie. K.E; Walton. J. S; Johnson. W. H. (2005b).** The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology*, 63, 818-30.
- ❖ **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.
- ❖ **Kim. I. H ; Na. K. J. et Yang. M. P. (2005).** Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *J Reprod Dev*, 51(6), 757-764.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **König. Horst Erich et Liebich. Hans-Georg. (2014).** Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas. 6<sup>eme</sup> Edition. Schattauer, Stuttgart, 681p.
- ❖ **LeBlanc M.M; Causey R.C. (2009).** Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Dom Anim*, 44 (S3), 10-22.
- ❖ **LeBlanc S. J; Lissemore K. D; Kelton D. F; Duffield T.F. (2006).** Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J Dairy Sci.*, 89, 1267-1279.
- ❖ **LeBlanc S. J; Duffield T. F; Leslie K. E; Bateman K. G; Keefe G. P; Walton J. S; Johnson W. H. (2002a).** Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.*, 85, 2223-36.
- ❖ **LeBlanc. S. J; T. F. Duffield; K. E. Leslie; K. G. Bateman; G. P. Keefe; J. S. Walton et W. H. Johnson. (2002b).** The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85(9):2237-2249.
- ❖ **Levy. Nitzan; Kobayashi. Shu-ichi; Roth. Zvi; Wolfenson. David; Miyamoto. Akio et Meidan. Rina. (2000).** Administration of Prostaglandin F<sub>2α</sub> During the Early Bovine Luteal Phase Does Not Alter the Expression of ET-1 and of Its Type A Receptor: A Possible Cause for Corpus Luteum Refractoriness. *Biology of Reproduction*. 1 août 2000. Vol. 63, n° 2, p. 377-382.
- ❖ **Lewis G.S. (1997).** Health problems of the postpartum cow. Uterine health and disorders, (symposium). *J Dairy Science*, 80, 984-94.
- ❖ **Lewis G.S. (2004).** Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim. Reproduction. Science*, 82 83, 281-294.
- ❖ **Marie-Christine, L; Jean-Michel, T; Jean-Marc et al. (2013).** Reproduction des animaux d'élevage, 3<sup>ème</sup> édition: educagri Paris. Chap physiologie de l'activité sexuelle femelle non gestante. 147p.
- ❖ **Mateus. L; da Costa.L. L; Bernardo. F. et Silva. J. R. (2002b).** Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim*, 37(1), 31-35.
- ❖ **Mateus. L; Lopes. da Costa. L; Diniz. P; Ziecik. A.J. (2003).** Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE<sub>2</sub> and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim Reprod Sci.*, 76, 143-54.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Mc Dougall. S; Macaulay. R; Compton. C. (2011).** Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.*, 99, 9-23.
- ❖ **Mccracken. John. A; Custer. Edward E. et Lamsa. Justin. C. (1999).** Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiological Reviews.* 1 avril 1999. Vol. 79, n° 2, p. 263-323.
- ❖ **Mcdonald. Peter et Greenhalgh. J. F. D. (2011).** *Animal Nutrition. Seventh Edition.* Prentice-Hall Inc, Harlow, 692p.
- ❖ **McDougall S. (2005).** Gross abnormalities, bacteriology and histological lesions of uteri of dairy cows failing to conceive or maintain pregnancy. *New Zealand Vet J*, 53(4), 253-256.
- ❖ **McDougall S; Macaulay R; Compton C. (2007).** Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.* 99: 9–23.
- ❖ **Mcgee. Elizabeth. A. et Hsueh. Aaron. J. W. (2000).** Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles. *Endocrine Reviews.* avril 2000. Vol. 21, n° 2, p. 200-214.
- ❖ **Mee. J. (2007a).** The role of the veterinarian in bovine fertility management on modern dairy farms. *Theriogenology*, 68, suppl 1, 257-65.
- ❖ **Mee. J. (2007b).** Un nouvel outil pour diagnostiquer l'endométrite. *Le Point Vétérinaire.* 2007. Vol. 38, n° 274, p. 14-15.
- ❖ **Mehlmann. Lisa. M. (2005).** Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. *Reproduction.* 1 décembre 2005. Vol. 130, n° 6, p. 791-799.
- ❖ **Meira. E. B ; Jr ; Henriques. L. C ; Sa ; L. R. et Gregory. L. (2012).** Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in HolsteinFriesian cows. *Journal of dairy science*, 95(12), 6969-6973.
- ❖ **Meissonnier. E ; Enriquez B. (1998).** Infections utérines du postpartum: épidémiologie, bactériologie et thérapeutique anti-infectieuse. *Recueil des journées Nationales des GTV*, 131-142.
- ❖ **Mejia M.E; Lacau-Mengido I.M. (2005).** Endometritis treatment with a PGF2 analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. *Theriogenology*, 63, 1266-1276.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Mihm. M; Crowe. Ma; Knight. Pg et Austin. Ej. (2002).** Follicle Wave Growth in Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. août 2002. Vol. 37, n° 4, p. 191-200.
- ❖ **Miller. H.V; Kimsey. P; Kendrick. J.W; Darien. B; Doering. L; Franti. C; Horton. J. (1980).** Endometritis of dairy cattle : diagnosis, treatment, and fertility. *Bovine Pract.*, 15, 13-23.
- ❖ **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.
- ❖ **Monniaux. D. (2009).** Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales*. Vol. 22, n°2, p. 59-76.
- ❖ **Neill. Jimmy. D. (2005).** *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Third Edition. Academic Press, San Diego, 2684p. 124.
- ❖ **Noakes. D.E; Wallace. L.M; Smith. G.R. (1990).** Pyometra in a Friesian heifer : bacteriological and endometrial changes. *Vet Rec.*, 126, 509.
- ❖ **Norris; David. O. et Carr. James. A. (2013).** *Vertebrate Endocrinology*. 5eme Edition. Academic Press Elsevier, London, 585p.
- ❖ **Norris; David. O. et Lopez. Kristin. H. (2010).** *Hormones and Reproduction of Vertebrates - Vol 5: Mammals*. Elsevier, London, 380p.
- ❖ **Opsomer. G; Grohn. Y.T; Hertl. J; Coryn. M; Deluyker. H; de Kruif. A. (2000).** Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium : a field study. *Theriogenology*, 53, 841-57.
- ❖ **Parlevliet J.M; Ytredal U; Berenpas D; Slaa J.W; Bandsma J; de Lange D. (2006).** Prevalence of subclinical endometritis in Dutch dairy cows and its effect on fertility. *Reprod. Domest. Anim.*, 41, 353
- ❖ **Pavaux. C. (1981).** Elements d'anatomie. Dans : L'utérus de la vache. Anatomie, Physiologie, Pathologie. Ed. Constantin A. et Meissonier E., Société Française de Buiatrie, Maisons-Alfort, I, 9-52.
- ❖ **Peter A.T, Bosu W.T.K. (1988)** Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium. *Theriogenology.*, 30, 10451051.

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Petit T; Spergser J; Rosengarten R; Aurich J. (2009).** Prevalence of potentially pathogenic bacteria as genital pathogens in dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim*, 44, 88-91.
- ❖ **Riddle W.T; LeBlanc M.M; Stromberg A.J. (2007).** Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a thoroughbred practice. *Theriogenology*, 68, 395-402.
- ❖ **Roche. J. F. (1996).** Control and regulation of folliculogenesis-a symposium in perspective. *Reviews of Reproduction*. 1 janvier 1996. Vol. 1, n° 1, p. 19.
- ❖ **Saint-Dizier. Marie et Chastant-Maillard. Sylvie. (2014).** La reproduction animale et humaine. Editions Quae, Versailles, 750p.
- ❖ **Santos. N. R. ; Roman. H. B. et Gilbert. R. O. (2006).** The use of leukocyte esterase reagent strips for diagnosis of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 66(3), 666-667.
- ❖ **Schatten. Heide et Constantinescu. Gheorghe. M. (2007).** Comparative Reproductive Biology. Blackwell Publishing, Ames, 402p. 126
- ❖ **Senger Ph.L. (2003).** Pathways to pregnancy and parturition. 2ème édition. USA: Cadmus Professional Communication. Chap 2. The organization and function in the female reproductive tract. 17p.
- ❖ **Sheldon I.M; Dobson H. (2004).** Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.*, 82-83, 295-306.
- ❖ **Sheldon. I. M ; G. S. Lewis ; S. LeBlanc et R. O. Gilbert. (2006).** Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65(8):1516-1530.
- ❖ **Stephens. L. R; Slee. K. J; Poulton. P ; Larcombe. M. et Kosior. E. (1986).** Investigation of purulent vaginal discharge in cows, with particular reference to *Haemophilus somnus*. *Aust Vet J*, 63(6), 182-185.
- ❖ **Stevens. R.D; Dinsmore. R; Ball. L; Powers. B.E. (1995).** Postpartum pathologic changes associated with a palpable uterine lumen in dairy cattle. *The Bovine Practitioner*, 29, 93-6.
- ❖ **Studer. E; Morrow. D.A. (1978).** 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.*, 172, 489-94.
- ❖ **Sveberg. G; Rogers. G. W; Cooper. J; Refsdal. A. O; Erhard. H. W; Kommisrud. E; Buckley. F; Waldmann. A. et Ropstad. E. (2015).** Comparison of

# Références Bibliographiques

---

- HolsteinFriesian and Norwegian Red dairy cattle for estrus length and estrous signs. *Journal of Dairy Science*. avril 2015. Vol. 98, n° 4, p. 2450-2461.
- ❖ **Thompson. Iain. R. et Kaiser. Ursula. B. (2014).** GnRH pulse frequency-dependent differential regulation of LH and FSH gene expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 25 mars 2014. Vol. 385, n° 1–2, p. 28-35.
  - ❖ **Tibary A; Bakkoury M. (1994).** *Reproduction Equine, tome I, La jument, ed Actes, Rabat, 129-139.*
  - ❖ **Trigal B ; Diez C ; Munoz M ; Caamano J.N ; Goyache F ; Correia-Alvarez E ; Corrales F.J ; Mora M.I ; Carrocera S ; Martin D ; Gomez E. (2014).** Elements of functional genital asymmetry in the cow. *Reprod fertility and development*, 26, 493501.
  - ❖ **Tsai. S. J. et Wiltbank. M. C. (1998).** Prostaglandin F2alpha regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biology of Reproduction*. 1 février 1998. Vol. 58, n° 2, p. 346-352.
  - ❖ **Wagener K; Gabler C; Drillich M. (2017).** A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*; 94:21–30.
  - ❖ **Wagner. D.C; BonDurant. R.H; Sischo. W.M. (2014).** Reproductive effects of estradiol cypionate in postparturient dairy cows. *J Am Vet Med Assoc.*, 219, 220-3.
  - ❖ **Werner. A; Suthar. V; Plontzke. J. et Heuwieser. W. (2012).** Relationship between bacteriological findings in the second and fourth weeks postpartum and uterine infection in dairy cows considering bacteriological results. *J Dairy Sci*, 95(12), 71057114.
  - ❖ **Westermann S; Drillich M; Kaufmann T.B; Madoz L.V; Heuwieser W. A. (2010).** clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterine bacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology*.74:1248–1255.
  - ❖ **Westermann. S; Drillich. M; Kaufmann. T.B; Heuwieser. W. (2009).** Elimination rate for *A. pyogenes* in dairy cows with endometritis treated systematically with ceftiofur or cloprotenol. *Clinic for animal reproduction, Freie Universität Berlin, Germany.*

# Références Bibliographiques

---

- ❖ **Williams E.J; Fischer D.P; Pfeiffer D.U; England G.C; Noakes D.E; Dobson H; Sheldon I.M. (2005).** Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-17.
- ❖ **Williams. E. J; Fischer D. P; Noakes D. E; England G. C; Rycroft A; Dobson H et Sheldon. I. M. (2007).** The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, 68(4), 549-559
- ❖ **Youngquist. R.S; Dawn Shore. M. (1997).** Postpartum uterine infections. In: Youngquist RS, editor. *Current therapy in large animal theriogenology*. WB Saunders Compagny, Philadelphia, 335-7.
- ❖ @1 : <http://www.coopersurgical.com>. Consulté le 28/04/2019.
- ❖ @2:[http://www.files/Downloads/TP+7++Protocole+coupe+histologique+v2011%20\(1\).pdf](http://www.files/Downloads/TP+7++Protocole+coupe+histologique+v2011%20(1).pdf). Consulter le 05/06/ 2019.

# Annexes

---

**Annexe 01:** Microscope optique Zeiss Primo Star mené d'une caméra.



**Annexe 03:** cassette d'inclusion.



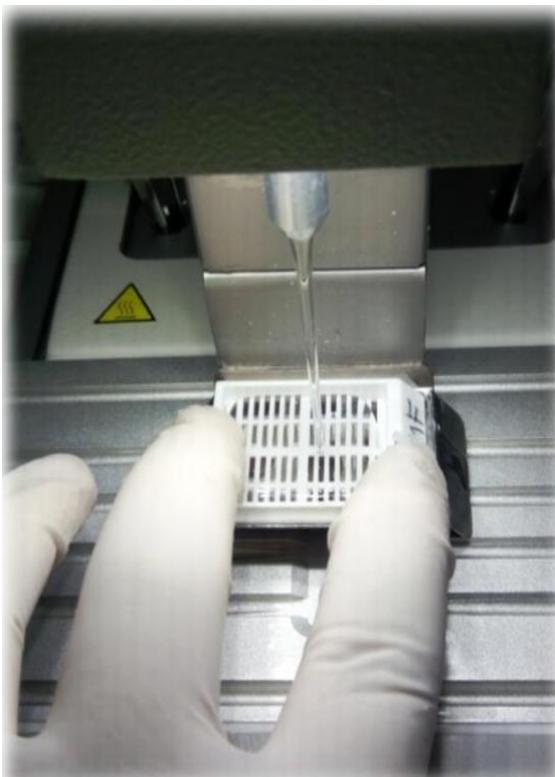
# Annexes

---

**Annexe 04:** Automate d'imprégnation.



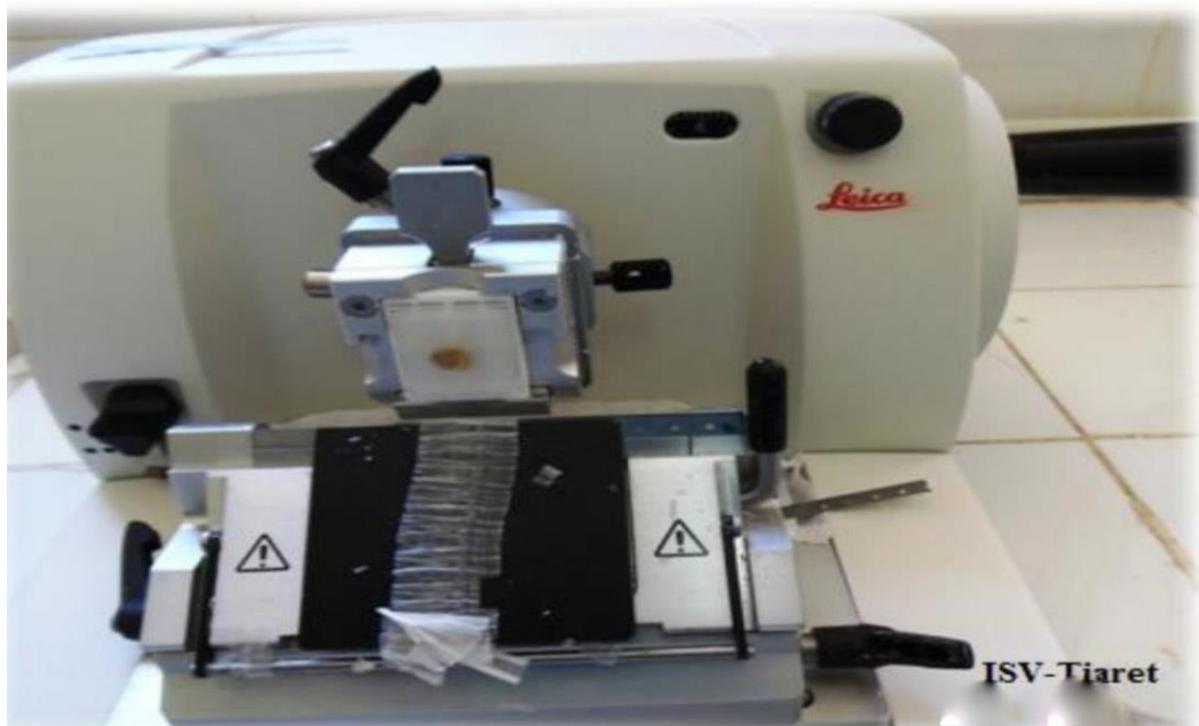
**Annexe 05:** Inclusion du tissu dans un moule de paraffine.



# Annexes

---

Annexe 06: Réalisation d'un ruban au microtome.



Annexe 07: L'étalement des coupes sur un bain marie.



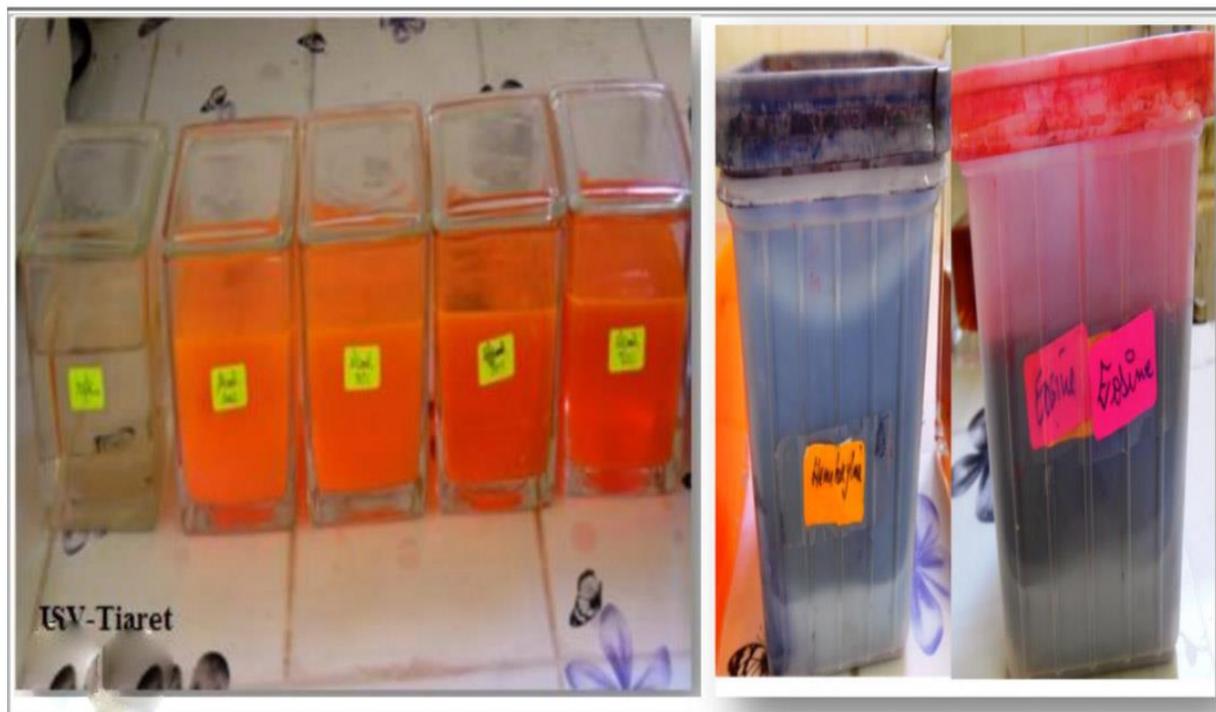
# Annexes

---

**Annexe 09:** Lames séchées dans une étuve et identifiées.



**Annexe 08:** Les différents bains de déparaffinage et de coloration (H/F).



# Annexes

---

## Annexe 10 : Baume de canada.

