



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 10876

**To cite this version :**

Roumegous, Martin. *Évaluation de l'intérêt de méthodes diagnostiques de l'inflammation génitale chez la vache à partir de prélèvements vaginaux*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2013, 102 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# ÉVALUATION DE L'INTÉRÊT DE MÉTHODES DIAGNOSTIQUES DE L'INFLAMMATION GÉNITALE À PARTIR DE PRÉLÈVEMENTS VAGINAUX CHEZ LA VACHE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**ROUMEGOUS Martin**  
Né, le 16 juillet 1988 à Rodez (12)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT**

---

**JURY**

PRESIDENT :  
**M. Christophe VAYSSIERE**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**Mme Sylvie CHASTANT**  
**M. Fabien CORBIERE**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

## REMERCIEMENTS

Aux membres du jury de thèse,

**A Monsieur le Professeur Christophe VAYSSIERE**

De l'Université Paul Sabatier

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

**A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a guidé tout au long de l'élaboration de ce travail.

Pour sa disponibilité et ses précieux conseils.

Sincères remerciements.

**A Monsieur le Professeur Fabien CORBIERE**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui a aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse, et nous a grandement aidé dans l'analyse statistique.

Sincère reconnaissance.

**A Anne GEFFRÉ**

Du laboratoire des cliniques de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pour sa contribution à ce travail.

Sincères remerciements.

## REMERCIEMENTS PERSONNELS

### A ma famille,

A **mes parents**, merci d'avoir toujours été là pour moi. Si j'ai pu faire ce que je voulais c'est grâce à vous et tous les sacrifices que vous avez fait pour moi depuis 25 ans : MERCI. Je ne vous l'ai pas dit souvent, et certainement pas assez : je vous aime.

A **Marlène**, aux bêtises que l'on faisait ensemble, et où, en tant qu'ainée, c'est toi qui prenais : je dois avouer que j'en ai bien profité. A nos disputes, les tours de table, et tous nos souvenirs. Tu es désormais une parfaite mère de famille que j'admire beaucoup. Avec **Seb**, vous avez fait de moi un heureux tonton avec **Gioia** qui grandit bien trop vite, et bientôt le 2<sup>ème</sup> : qu'il me tarde de l'amener au Vélodrome !

A **Marion**, la petite dernière, la pourrie-gatée ! J'ai l'impression qu'hier tu n'étais encore qu'une enfant, alors que maintenant c'est une vraie petite femme que tu es devenue, épanouie heureuse et un peu folle ! Je suis très fier de ce que tu es devenue.

A **papy René**, merci de m'avoir transmis ta passion pour les bêtes. A tout ce que tu m'as appris et m'apprends encore. Je t'admire beaucoup et j'espère que tu es fier de ton petit-fils.

A **mamy Denise, papy et mamy Comtal**, partis trop tôt, j'espère que vous êtes fiers de moi.

A **Sandrine, Valérie, Bertrand et François**, attention, un nouveau véto Roumégous débarque !

A **Gabi**, Chichou, à notre histoire, ma persévérance, la Pergola, nos danses sur JJG, le we GTV... à tout ce que l'on a déjà vécu et ce qu'il nous reste à vivre. A notre bébé Haka, qui depuis peu n'en est plus un ! Tu es la fille que j'ai si longtemps cherché, celle qui me comprend, me reconforte et me redonne confiance. Je t'aime.

### A mes amis Bezonnayres,

A **Romu**, mon meilleur ami. A tes « romuades », ton sens du pilotage, ta tortue, ta détente négative, les 900g de raclette... Tu as toujours été là pour moi, dans les bons et les mauvais moments, pendant la prépa notamment, si j'en suis là aujourd'hui tu y es pour beaucoup et je ne t'en remercierai jamais assez. Quelle chance de t'avoir et de pouvoir compter sur toi n'importe quand. J'espère rester toujours aussi proche de toi (et ta famille).

A **Fabien**, le 3<sup>ème</sup> de la bande. Que de bons moments passés ensemble, la carte postale, les vacances au ski, le commissariat de Font-Romeu, l'Espagne, les quilles (notre hobby !), l'ICB et j'en passe. Même si nos routes se sont quelque peu éloignées, tu es un ami qui compte.

A tous les deux, quelle ne fut pas ma surprise de voir vos têtes un jour à l'abbaye d'Encalcat en ce jour d'avril 2008 : ce moment restera à jamais gravé en moi. Merci pour tout.

A **Henri**, celui qui joue le rôle de grand frère, d'exemple. Merci pour tous tes bons conseils, ton amour pour ton village, ton club, tes amis et le nombre incalculable d'heures que tu y consacres. Ton implication et ton application dans tout ce que tu entreprends forcent au respect. Chapeau.

A **Lola, Mélanie et Delphine** : merci d'être toujours là, des amies qui comptent beaucoup pour moi. Je crois qu'on forme une « belle bande » et j'espère qu'on trouvera encore le temps de se retrouver tous ensemble à Bezannes ou ailleurs.

A l'ICB, « mon club de cœur » : **Guibz, Mini-Guibz, Henri, Ménel, Kader, Nikos, Matose, Roca, Bubu, Brice, Pétaf, Nono** et les autres. Continuez à faire vivre ce club, et qu'il reste un club de village formé de copains.

A tous les autres que j'ai toujours plaisir à revoir : **Fède, Tripe, Doonet, Romain, Antho...**

**A mes amis à l'ENVT,**

**A la stabu et ces 2 années de coloc,**

A **Mulak**, à ta barbe rousse et ta chichine. Pour ton aptitude à te lever (tôt) les lendemains de boom, pour ta capacité à en faire toujours trop. A ton plongeon à la SPI, nos parties de FIFA, de ping-pong ou de trou du cul en Corse, j'aime tellement te voir perdre et te chambrer. Aux soirées chez tonton pour les matches de Bordeaux ou en all star game. A J&M. A nos souvenirs au cercle, aux aiglons, au VRC, à Beauvais... A cette thèse dont on vient enfin à bout. Merci pour ton soutien et ta franchise, tu es un ami qui compte.

A **Hugues**, pour être plus auvergnat que toi ! A ces vacances en Corse chez Papy Li et les oursinades. Au VRC et ce coup de poing, aux lapins de l'ENVT, à cette nuit à la SPI, à la poire en rentrant du bowling ! Merci pour tout ça et ces 2 ans en coloc.

A **Philou**, pour cette année passée trop vite à la stabu. A ces parties de belote et de fléchettes, à notre meute, à la mousse au chocolat, à cette boom pré-exam : quand est ce qu'on recommence ?

A **Max**, pour être le seul à avoir un front plus grand que le mien. A cette année en coloc, ton armoire dans garage, ton vovo à la sortie du bowling. Saint-Urcize c'est pour quand !?

A **Loic**, pour s'être croisé à la stabu. Pour ton côté cagnassou, pour les lumières du stade et ta vision en 2 dimensions.

**A la Bouille,**

**A Maxou,** pour cette année en coloc, le 4L Trophy inoubliable et sa préparation, ce voyage au pays des kiwis, ces raaandonnées. Pour cette valise, ce moineau et nos engueulades... tel un vieux couple ! Que de choses partagées ensemble et j'espère qu'il y en aura d'autres.

**A Noldou,** pour cette année en coloc, pour être le papa de la Bouille, pour ton gène cool, pour tes savates et ton sacré pied gauche. A nos parties de Fifa en rentrant de boom, nos soirées passées derrière Colette, notre folie pour l'OM. Quand est ce qu'on retourne au Vel' ?

**A Clément,** pour cette année en coloc, pour ces 5 ans aux aiglons, pour toutes ces « branlées » à Fifa. A la petite Auberge, la fèria et le couvent de Bezannes.

**A Bulot,** pour cette année en coloc, pour ton accent unique : mon vieux le poulpe, peuchère, Aquareeeeeeelle, tu me dééééégoutes ! A ta bonne humeur matinale et ton côté cagnassou. Merci pour les séjours à Aubagne et les matches de l'OM avec Florent.

**A Lili,** pour cette année en coloc, cette épilation des épaules, ce we à Capreton, l'Amigo, la FIFA, pour « P'tite sœur tu m'as laissé » de De Palmas, ces 2 ans en clinique. Beaucoup de souvenirs et d'autres à venir car « on s'en fout, on sera voisins » !

**A Gus,** pour ces 2 ans en cliniques, le 4L Trophy, la Spi, la fabrication de Colette 2.0. Bonne continuation dans ta vie au milieu des poneys.

**A Anna,** pour t'avoir d'abord détesté pendant mes kôlles de bio puis adoré à l'ENVT ! Pour ton accent inimitable, les préchauffés dans ton appart, le we GTV, ISITV, la peinture de Colette, le we à Mauriac. Par ce que tu parles mary beaucoup mais que je t'adore. J'espère pouvoir venir te voir un jour à Maurice.

**A Auré et Arthur,** merci pour vos bons conseils pour le concours, les battles, la truite saumonée.

**A PE,** pour ces 7 ans ensembles, nos origines et nos passions en commun. A cette sortie en enduro et celles qu'il reste à faire.

**A Cuquemelle,** pour ton côté Jacky hypertrophié, pour tes mails et ton grand cœur. Merci pour ton aide pour Colette 2.0, pour ton dévouement à l'amicale. Ton nom restera à l'ENVT.

**A Dusart,** son cuissard et ses retards : à cette belle A5 bovine passée tellement vite.

**A Alex** (la machine), pour ce séjour en NZ, le Voltarène®, la tête des canards, Fumel et le TCMS. Merci de m'avoir fait partager ta passion pour le ballon ovale. Au VVRC.

**A Mumu,** pour ta patience pendant cette année de CC, qui n'a d'égal que la longueur de tes poils aux oreilles ! Au GTVj, à l'aligot, La Remise et le bowling. Bon séjour dans le ch'nord et à très vite.

A **Diane** et **Marine**, pour cette année à Mauriac, nos ulcères gastriques, l'Australie, la tarte aux poireaux, mon rizotto maison et ces soirées belotte.

A **Gio**, pour ce brillant 1<sup>er</sup> exam en poulot, ces apéros d'anat, ces soirées sing star, et toutes ces boomettes, merci de nous avoir supportés pendant ces 5 années.

A **JLG**, merci pour la caméra thermique, ta disponibilité, les ambul d'aviaire et surtout pour la ch\*\*\*\* aux lapins !

A « **Michiel de la CIAF** », pour ces booms halloween inoubliables, ces bières « 3 Monts » : à celles bues et celle qu'il reste à boire.

**A mes copromos** : Bastien (le raid Euskadi, notre Aveyron), Indélébile, Alexis, Marc (the wall), Kuca, Amandine, Rouloche (pour ton hospitalité avec mes amis), Léa, Ragote, Kénif, Soài, Lenfant, Servera, Fagot, Zbik, Jeanne, Jo, Val et les autres : merci pour ces 5 belles années et bonne chance pour la suite.

**A mes docteurs** : **Fixou** la boule, pour le pastis-téquila, la bécasse, tes blagues, le VRC. **Laz**, mon docteur : à ces 2 ans au VRC, aux aiglons, en boomette (merci d'avoir ramé pour 2 au canoé). **Gueyd** et ces 3 ans aux Aiglons. **Zézette** et sa maman, **Martich** et ce 1<sup>er</sup> jour de pique, **Michou**, **Ed** la menace, **Trappou** et **Claire**, **Mr Pinard**, **Laura**, **Pauline**, **Evence**...merci pour ces brimades (bien qu'interrompues...) et toutes les traditions de l'école que vous nous avez inculqué.

**A mes poulots** :

A **Carlac** et **Griffeuille**, les inséparables, aux All Star Game chez tonton, à cette nuit formidable, aux « vieilles margatelles », aux roumégriff, au piccolo PES, aux moqueries au ping-pong : je pars tranquille, la relève est assurée !! Vous allez me manquer.

A la stabu des génisses : **Momo**, ta grosse bite et tes rots. **Maud** et tes retours de boom. **Béorch** la solide, à notre double au tennis. Merci pour ce mois de squattage.

A « comment ça s'appelle ? » **Renaud**, Oui monsieur !! A **Duf** et cette sacrée Saint Valentin.

A **Lemaitre**, ex et nouveau voisin, **Duler** et ses buffets Pfizer, **Coco** et mon docteur verre chez toi, **Floutre** et galou, **Albert**, **Serrant** la pince, **Hugnet**, **Espi** et mamy Ginette, **Barto** et sa put\*\*\* d'île, **Julia**, **Juliette**, **Calandre** et la fête au cassoulet, **Jadou**, **Casouille** et cette soirée à Bx, **Alice**, **Déol** et ton chien-serpillière et tous les autres : vous êtes de bons poulots, soyez dignes de vos docteurs !

**Aux anciens** : Nik le belge, Bala, Françou, Ximun, Greg, Iban, Totor...

**Aux plus jeunes** : Darty la blatte en short, Jeff et ton grand front, Zarmé le solide, Morau et la gare de Brive, Miramar les survivants de la promo fantôme, Dugland, Soussoul ricard'eau et les

picolo PES, Perrin, Girbal, Tristan (Zlatan), Combes, Sabine, Bambam, Lise, Sochatte, Manou, Hirsh, Doidy, Adjo, Béber, Pierre Frein...

Aux aiglons, au VRC, au GTVj pour ces belles années.

A mes amis ayant choisi la mauvaise école : Coucou, Ronan, Maximus, Cochette, Moriceau, Glouton...

A **Colette et Lulu**, que j'ai eu la chance de connaître et qui manquent tant à notre école.

**Aux vétérinaires m'ayant reçu en stage,**

**A la clinique des Colettes** à Bellenaves, merci à tous pour votre accueil et votre gentillesse pendant ce stage de poulot. Merci à Sandrine et Bertrand de m'avoir supporté pendant ces 4 semaines. Merci Ber pour tout ce que tu m'as appris.

**A Dr Mayet**, Odette et Patricia à Maurs, merci pour votre accueil pendant ces 3 ans de prophylaxie. Merci à Yves pour m'avoir tant appris, pour m'avoir inculqué la rigueur, pour ces soirées à écouter les anecdotes du métier.

**A la clinique de l'Europe** à Mayenne pour ce stage de 4<sup>e</sup> année.

**A la clinique de Mauriac** : à Didier, François, Jacques, Hugues, Griet, Gaëlle, Viviane, Josy, Colette et Yvonne, merci à tous pour votre accueil, votre patience et votre aide pour mes 1ers pas en tant que véto. A cette année à venir en tant qu'assistant.

A tous ceux que j'ai oublié de nommer et qui comptent pour moi, veuillez m'en excuser !



# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	11
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	12
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	14
<b>LISTE DES ABBRÉVIATIONS</b> .....	15
<b>INTRODUCTION</b> .....	17
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	19
<b>I. Le phénomène inflammatoire au cours de l’involution utérine</b> .....	20
<b>I.1. Physiologie de l’inflammation utérine post-partum</b> .....	20
<b>I.1.1. Contamination bactérienne de l’utérus en post-partum</b> .....	20
<b>I.1.1.1. Conditions favorables au développement bactérien</b> .....	20
<b>I.1.1.2. Bactéries impliquées</b> .....	21
<b>I.1.2. Activation du système de défense innée</b> .....	21
<b>I.1.2.1. Les barrières anatomiques et physiologiques</b> .....	21
<b>I.1.2.2. Défenses cellulaires locales</b> .....	22
I.1.2.2.1. La reconnaissance des pathogènes .....	22
I.1.2.2.2. La production de cytokines par les cellules épithéliales .....	22
I.1.2.2.3. Le recrutement des leucocytes et la phagocytose.....	23
<b>I.1.3. Activation du système de défense acquis</b> .....	23
<b>I.1.3.1. Activation de l’immunité humorale</b> .....	24
<b>I.1.3.2. Activation de l’immunité à médiation cellulaire</b> .....	25
<b>I.2. Persistance d’une inflammation utérine</b> .....	27
<b>I.2.1. Dysfonctionnement du système immunitaire</b> .....	27
<b>I.2.1.1. Déficience du système immunitaire</b> .....	27
<b>I.2.1.2. Exacerbation du système immunitaire</b> .....	28
<b>I.2.2. Conséquences de la persistance de l’inflammation utérine</b> .....	29
<b>I.2.2.1. Modifications physiologiques</b> .....	29
<b>I.2.2.2. Conséquences sur les performances de reproduction</b> .....	30
<b>I.2.2.3. Conséquences économiques</b> .....	30

<b>II.</b>	<b>Les techniques actuelles de caractérisation du statut inflammatoire utérin</b> .....	31
<b>II.1.</b>	<b>Définitions</b> .....	31
<b>II.2.</b>	<b>Examens utérins</b> .....	32
<b>II.2.1.</b>	<b>Examen cytologique</b> .....	32
<b>II.2.2.</b>	<b>Examen histologique</b> .....	33
<b>II.2.3.</b>	<b>Examen bactériologique</b> .....	33
<b>II.2.4.</b>	<b>Palpation transrectale</b> .....	34
<b>II.2.5.</b>	<b>Echographie transrectale</b> .....	34
<b>II.3.</b>	<b>Examens vaginaux</b> .....	35
<b>II.3.1.</b>	<b>Aspect macroscopique des sécrétions vaginales</b> .....	35
<b>II.3.2.</b>	<b>Dosages biochimiques</b> .....	37
<b>II.3.3.</b>	<b>Cytologie vaginale</b> .....	38
<b>II.4.</b>	<b>Examens sanguins</b> .....	38
<b>II.4.1.</b>	<b>Dosage des protéines de la phase aiguë</b> .....	38
<b>II.4.2.</b>	<b>Dosage des prostanoides</b> .....	39
<b>II.4.3.</b>	<b>Dosage de l'hydroxyproline</b> .....	39
<b>III.</b>	<b>Notion d'inflammation génitale</b> .....	40
<b>III.1.</b>	<b>Notion de cervicite</b> .....	40
<b>III.2.</b>	<b>Impact de la cervicite sur les performances de reproduction</b> .....	40
<b>III.3.</b>	<b>Lien entre inflammation cervicale et inflammation utérine</b> .....	40
<b>III.4.</b>	<b>Expression clinique de l'inflammation génitale</b> .....	41
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b> .....		43
<b>I.</b>	<b>Matériels et méthodes</b> .....	44
<b>I.1.</b>	<b>Constitution de l'échantillon d'étude</b> .....	44
<b>I.1.1.</b>	<b>Elevages</b> .....	44
<b>I.1.2.</b>	<b>Critères d'inclusion</b> .....	44
<b>I.2.</b>	<b>Protocole expérimental</b> .....	44
<b>I.3.</b>	<b>Méthodes</b> .....	45
<b>I.3.1.</b>	<b>Lavage vaginal</b> .....	45
<b>I.3.2.</b>	<b>Bandelette urinaire</b> .....	46
<b>I.3.3.</b>	<b>Prélèvements cytologiques</b> .....	46
<b>I.3.4.</b>	<b>Réalisation, coloration et lecture</b> .....	47
<b>I.3.5.</b>	<b>Mesure de la densité optique</b> .....	49

<b>I.4.</b>	<b>Collecte, codage et saisie des données .....</b>	<b>49</b>
<b>I.5.</b>	<b>Analyse statistique .....</b>	<b>49</b>
<b>I.5.1.</b>	<b>Outils statistiques.....</b>	<b>49</b>
<b>I.5.2.</b>	<b>Tests statistiques .....</b>	<b>50</b>
<b>I.5.3.</b>	<b>Courbes ROC.....</b>	<b>50</b>
<b>II.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>53</b>
<b>II.1.</b>	<b>Description de l'inflammation génitale .....</b>	<b>53</b>
<b>II.1.1.</b>	<b>Analyse quantitative.....</b>	<b>53</b>
<b>II.1.1.1.</b>	<b>Inflammation utérine .....</b>	<b>53</b>
<b>II.1.1.2.</b>	<b>Inflammation cervicale .....</b>	<b>53</b>
<b>II.1.1.3.</b>	<b>Inflammation vaginale .....</b>	<b>54</b>
<b>II.1.1.4.</b>	<b>Mesure de la densité optique .....</b>	<b>55</b>
<b>II.1.1.5.</b>	<b>Bandelette urinaire.....</b>	<b>55</b>
<b>II.1.1.6.</b>	<b>Corrélation des degrés d'inflammation dans les différents compartiments génétaux.....</b>	<b>57</b>
	<b>II.1.1.6.1. Corrélation entre inflammation utérine et cervicale .....</b>	<b>57</b>
	<b>II.1.1.6.2. Corrélation entre inflammation utérine et vaginale .....</b>	<b>58</b>
	<b>II.1.1.6.3. Corrélation entre inflammation cervicale et vaginale .....</b>	<b>58</b>
<b>II.1.1.7.</b>	<b>Corrélation entre les différents paramètres vaginaux .....</b>	<b>59</b>
<b>II.1.2.</b>	<b>Analyse qualitative .....</b>	<b>60</b>
<b>II.1.2.1.</b>	<b>Description des états inflammatoires des différents compartiments .....</b>	<b>60</b>
<b>II.1.2.2.</b>	<b>Association entre les états inflammatoires des différents compartiments.....</b>	<b>60</b>
	<b>II.1.2.2.1. Utérus et col.....</b>	<b>60</b>
	<b>II.1.2.2.2. Relation entre inflammation utérine et taux de neutrophiles vaginaux .....</b>	<b>61</b>
	<b>II.1.2.2.3. Relation entre inflammation cervicale et taux de neutrophiles vaginaux .....</b>	<b>62</b>
	<b>II.1.2.2.4. Relation entre inflammation génitale et taux de neutrophiles vaginaux.....</b>	<b>62</b>
<b>II.1.3.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>63</b>
<b>II.1.3.1.</b>	<b>Choix d'une technique de référence pour le diagnostic de l'inflammation utérine.....</b>	<b>63</b>
<b>II.1.3.2.</b>	<b>Prévalence des endométrites.....</b>	<b>64</b>

<b>II.2.</b>	<b>Détection d'une inflammation génitale.....</b>	<b>65</b>
<b>II.2.1.</b>	<b>Tests diagnostiques à partir de prélèvements vaginaux.....</b>	<b>65</b>
<b>II.2.1.1.</b>	<b>Le frottis vaginal.....</b>	<b>65</b>
<b>II.2.1.2.</b>	<b>Mesure de la densité optique .....</b>	<b>67</b>
<b>II.2.1.3.</b>	<b>La mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal .....</b>	<b>69</b>
<b>II.2.1.4.</b>	<b>La mesure du taux de protéines du liquide vaginal.....</b>	<b>73</b>
<b>II.2.1.5.</b>	<b>La mesure du pH du liquide vaginal.....</b>	<b>76</b>
<b>II.2.2.</b>	<b>Comparaison des différents tests diagnostiques .....</b>	<b>78</b>
<b>III.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>81</b>
<b>III.1.</b>	<b>Discussion sur les matériels et méthodes .....</b>	<b>81</b>
<b>III.2.</b>	<b>Discussion sur les résultats .....</b>	<b>82</b>
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>83</b>
	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>83</b>
	<b>ANNEXES .....</b>	<b>83</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Histologie de l'utérus non gravide de la vache.....	25
Figure 2 : Evolution de la proportion d'utérus bovins contaminés pendant la période post-partum .....	26
Figure 3 : Sonde Metricheck®. ....	36
Figure 4 : Classification du mucus vaginal proposée par Williams <i>et al.</i> (2005).....	36
Figure 5 : Montage de la cytobrosse et du pistolet d'IA pour les prélèvements vaginaux, cervicaux et utérins. (Source : Deguillaume 2010).....	46
Figure 6 : Photos de frottis utérins de vache obtenus par cytobrosse (x1000). ....	48
Figure 7 : Exemple de courbe ROC. (Source : Delacour, 2005). ....	51
Figure 8 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles utérin (n=75). ....	53
Figure 9 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles cervical (n=77). ....	54
Figure 10 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles vaginal (n=77). ....	54
Figure 11 : Distribution de la densité optique du liquide vaginal (n=76).....	55
Figure 12 : Distribution des taux de leucocytes des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80).....	56
Figure 13 : Distribution des taux de protéines des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80).....	56
Figure 14 : Distribution du pH des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80). ....	57
Figure 15 : Corrélation entre les taux de neutrophiles utérins et cervicaux. ....	57
Figure 16 : Corrélation entre les taux de neutrophiles utérins et vaginaux. ....	58
Figure 17 : Corrélation entre les taux de neutrophiles cervicaux et vaginaux.....	58
Figure 18 : Corrélation entre le taux de neutrophiles vaginaux et la densité optique. ....	59
Figure 19 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence (n=28) ou non (n=45) d'une endométrite. ....	61
Figure 20 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence (n=18) ou non (n=57) d'une cervicite. ....	62
Figure 21 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence (n=30) ou non (n=43) d'une inflammation génitale. ....	63
Figure 22 : Courbe ROC du test « frottis vaginal » pour la détection d'une endométrite. ....	65

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Seuils de concentration en composants des sécrétions vaginales en relation avec le taux de réussite à l'insémination.....	37
Tableau 2 : Valeurs diagnostiques de différents critères cliniques, utilisés seuls ou en combinaison, dans le diagnostic d'une inflammation endométriale (plus de 6% de neutrophiles), endocervicale (plus de 5% de neutrophiles) ou génitale pathologiques (plus de 6% de neutrophiles sur un frottis endométrial et/ou plus de 5% de neutrophiles sur un frottis endocervical). (Source : Deguillaume, 2010).....	42
Tableau 3 : Moyennes des taux de neutrophiles vaginaux selon le taux de leucocytes du liquide vaginal. ....	59
Tableau 4 : Association entre état inflammatoire de l'utérus et du col (n = 74 paires).....	61
Tableau 5 : Valeurs des seuils de pourcentages de polynucléaires utilisés dans le diagnostic d'une endométrite en fonction des jours post-partum selon les études .....	64
Tableau 6 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut utérin (n=73). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	66
Tableau 7 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut cervical (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.....	66
Tableau 8 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut génital (n=73). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	67
Tableau 9 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut utérin (n=57). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	68
Tableau 10 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut cervical (n=59). Performances du test pour cette valeur seuil.....	69
Tableau 11 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut génital (n=57). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	69
Tableau 12 : Tableau de contingence entre le statut utérin des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=75). ....	70
Tableau 13 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	71
Tableau 14 : Tableau de contingence entre le statut cervical des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=77). ....	71
Tableau 15 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut cervical (n=77). Caractéristiques du test pour cette valeur seuil.....	72
Tableau 16 : Tableau de contingence entre le statut génital des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=75). ....	72

Tableau 17 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	73
Tableau 18 : Tableau de contingence entre le statut utérin des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=75). ....	73
Tableau 19 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	74
Tableau 20 : Tableau de contingence entre le statut cervical des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=77). ....	74
Tableau 21 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut cervical (n=77). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	75
Tableau 22 : Tableau de contingence entre le statut génital des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=75). ....	75
Tableau 23 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	76
Tableau 24 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	77
Tableau 25 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut cervical (n=77). Caractéristiques du test pour cette valeur seuil. ....	77
Tableau 26 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil. ....	78

## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'évaluation de la note d'état corporel. ....	83
Annexe 2 : Document accompagnant les prélèvements en élevage .....	83
Annexe 3 : Courbe ROC du test "frottis vaginaux" pour la détection d'une cervicite.....	83
Annexe 4 : Courbe ROC du test "frottis vaginaux" pour la détection d'une inflammation génitale .....	83
Annexe 5 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal" pour la détection d'une endométrite. ....	83
Annexe 6 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal" pour la détection d'une cervicite.....	83
Annexe 7 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale. ....	83
Annexe 8 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal" pour la détection d'une endométrite. ....	83
Annexe 9 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal" pour la détection d'une cervicite.....	83
Annexe 10 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale. ....	83
Annexe 11 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation utérine. ....	83
Annexe 12 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation cervicale.....	83
Annexe 13 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale. ....	83
Annexe 14 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation utérine. ....	83
Annexe 15 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation cervicale. ....	83
Annexe 16 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale.....	83



## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

AGNE : Acides Gras Non Estérifiés  
AND : Acide désoxyribonucléique  
AMP : Peptide antimicrobien  
AUC : Aire sous la courbe  
BoHV-4 : Virus Herpes bovin de type 4  
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité  
GNN : Granulocytes neutrophiles  
HT : Hors taxe  
IA : Insémination artificielle  
Ig : Immunoglobuline  
IL : Interleukine  
IVIF : Intervalle vêlage-insémination fécondante  
JPP : Jour(s) post partum  
LB : Lymphocyte B  
LH : Hormone lutéinisante  
LPS : Lipopolysaccharide  
LT : Lymphocyte T  
MGG : May-Grunwald-Giemsa  
% N : Taux de neutrophiles  
NADIS : National animal disease information service  
PAMP : Pathogen-associated molecular pattern  
PGEM : Métabolites issus des prostaglandines E  
PGFM : Métabolites issus des prostaglandines F  
PPA : Protéines de la phase aiguë  
ROC : Receiver Operating Characteristic  
Se : Sensibilité  
Sp : Spécificité  
TLR : Toll-like receptor  
TNF $\alpha$  : Tumor necrosis factor  $\alpha$   
VPN : Valeur Prédictive Négative  
VPP : Valeur Prédictive Positive



## INTRODUCTION

L'objectif de la gestion de la reproduction en élevage bovin laitier est d'obtenir un intervalle de temps rentable entre deux gestations. Ainsi, après un vêlage, le but est de mettre en place une nouvelle gestation dans un intervalle de temps optimal, tant biologiquement qu'économiquement. La santé de l'appareil génital est un des facteurs limitant principaux de cet objectif. Ainsi, les affections utérines post-partum sont la principale cause de subfertilité voire d'infertilité chez les bovins laitiers. L'importance de ce phénomène est telle que plus de 500 articles sont parus ces 40 dernières années au sujet des affections utérines les plus courantes que sont les métrites, endométrites et pyomètres (Sheldon *et al.* 2006). Ces affections utérines représentent un enjeu économique majeur, estimé à 1,4 billions d'euros par an en Europe et 650 millions de dollars aux Etats-Unis (Sheldon *et al.* 2009b).

Nous avons choisi de nous concentrer ici sur l'étude des endométrites chez la vache laitière. La première difficulté consiste à trouver une définition précise à ce terme tant la littérature scientifique en a proposé au cours des dernières années. Ce n'est qu'en 2006 que Sheldon *et al.* ont proposé des définitions, afin d'obtenir un consensus international et une clarification de la terminologie. Ainsi, l'endométrite est actuellement définie comme la persistance d'un état inflammatoire au-delà de 21 jours post-partum, sans altération de l'état général. Elle peut être diagnostiquée à la fois de façon cytologique par un nombre élevé de neutrophiles sur les prélèvements utérins (travaux fondateurs de Kasimanickam *et al.* 2004) et de façon clinique par une diminution des performances de reproduction. L'inflammation n'est que superficielle et ne s'étend pas plus profondément que le *stratum spongium*. On distingue alors l'endométrite subclinique et ses manifestations purement cytologiques, de l'endométrite clinique caractérisée par la présence d'écoulements vaginaux purulents.

L'importance de ces affections et leurs conséquences peuvent être évaluées par quelques données chiffrées. Les endométrites sont associées à une diminution d'environ 20% du taux de réussite en première insémination, une réduction de près de 20% du taux de gestation à 150 jours post-partum, un allongement d'une trentaine de jours de l'intervalle vêlage-insémination fécondante (Sheldon *et al.* 2009b, Deguillaume 2010).

Un des principaux problèmes consiste à identifier les animaux présentant une inflammation génitale susceptible de diminuer leurs performances de reproduction, tout en ne traitant pas (avec des antibiotiques) des animaux non atteints. Or avec les techniques disponibles sur le terrain, seules 60% des vaches réellement atteintes d'inflammation génitale sont identifiées (et donc traitées). Le diagnostic par excès est moins problématique puisqu'il ne concernerait que 10 à 15 % des animaux identifiés comme malades (Deguillaume, 2010).

Nous avons dans un premier temps synthétisé les données bibliographiques concernant la physiopathologie de l'inflammation utérine en post-partum. Puis, dans la partie expérimentale, nous avons cherché et testé la fiabilité d'autres méthodes, basées sur des prélèvements ou examens vaginaux, plus faciles à réaliser que la cytologie utérine, permettant d'identifier les vaches présentant une inflammation.



**PARTIE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. Le phénomène inflammatoire au cours de l'involution utérine**

### **I.1. Physiologie de l'inflammation utérine post-partum**

Le post-partum correspond à la période allant de la mise-bas jusqu'à la fin de l'involution utérine, environ 40 jours plus tard. L'involution utérine est définie comme le retour de l'utérus à l'état prégravidique suite à la parturition. Dans toutes les espèces, la lumière utérine est considérée comme un milieu stérile jusqu'à la mise bas (Földi *et al.* 2006). Mais la vache se distingue des autres femelles mammifères par une contamination microbienne presque systématique de l'utérus au moment de la parturition, ou peu après. L'involution utérine est donc chez la vache, un processus physiologiquement septique (Paisley *et al.* 1986). Ceci implique la mise en place d'une réponse immunitaire adaptée de l'hôte, réponse qui repose sur la reconnaissance des contaminants, l'activation de la réponse innée et de l'immunité acquise. Cette inflammation qui se développe, aboutit généralement à l'élimination progressive et totale de la colonisation initiale (Sheldon *et al.* 2009b). Si la contamination prend le dessus sur la réponse immunitaire de l'hôte, la contamination physiologique se transforme en infection pathologique.

#### **I.1.1. Contamination bactérienne de l'utérus en post-partum**

##### **I.1.1.1. Conditions favorables au développement bactérien**

Au moment du vêlage, l'abolissement des barrières anatomiques que sont la vulve, le vestibule, le vagin et le col, autorise une contamination ascendante des voies génitales par des bactéries provenant de l'environnement, de la région périnéale, de la peau et des fèces de l'animal (Azawi, 2008).

La colonisation nécessite l'adhérence des bactéries à la muqueuse ainsi que leur pénétration dans l'épithélium (Sheldon *et al.* 2009b). Or, au cours de l'involution utérine, l'endomètre est le siège d'importants remaniements histologiques, dont initialement une nécrose et une desquamation massive, ce qui favorise la pénétration des contaminants. De plus, des lochies sont présentes en abondance dans la lumière utérine, lochies constituées par une partie des liquides fœtaux, du sang et des débris tissulaires, et créent ainsi un milieu de culture favorable à la croissance des germes anaérobies (Kim *et al.* 2005, Azawi 2008).

Après la mise-bas, en raison des conditions favorables à leur implantation et leur multiplication, l'utérus des vaches est ainsi physiologiquement contaminé par diverses bactéries. On estime qu'au cours des vêlages normaux, 90% des utérus sont contaminés spontanément dans les 2 semaines suivant le part (Sheldon, 2004).

### **I.1.1.2. Bactéries impliquées**

La flore bactérienne intra-utérine post-partum se compose de germes saprophytes et pathogènes, Gram positifs et négatifs en quantités équivalentes, aéro- et anaérobies (Elliot *et al.* 1968, Noakes *et al.* 1989, Hussain *et al.* 1990). La plupart provient du tube digestif postérieur et de la région périanale (Paisley *et al.* 1986, Hussain *et al.* 1990). Cette flore est variée et propre à chaque animal. Elle est dominée par *Escherichia coli* au moins dans les premiers jours suivant la parturition. Les autres bactéries les plus fréquemment impliquées sont *Trueperella* (anciennement *Arcanobacterium*) *pyogenes* et les *Enterobacteriaceae*, ainsi que quelques bactéries anaérobies telles que *Fusobacterium sp.* et *Bacteroides* (Azawi, 2008). Ces bactéries sont généralement associées (Mateus *et al.* 2002) : les germes aéro- et anaérobies agissent de façon synergique pour favoriser la croissance et/ou la pathogénicité d'autres bactéries (Paisley *et al.* 1986).

Comme nous l'avons déjà dit, la plupart des bactéries impliquées dans la colonisation de l'utérus en post-partum sont des hôtes non pathogènes du tractus digestif. Cependant, elles peuvent développer des propriétés invasives (Kim *et al.* 2005). La pathogénicité d'*E. coli* repose ainsi sur sa capacité d'adhésion aux cellules épithéliales, sa motilité assurée par le flagelle ainsi que sur la libération de toxines comme la shigatoxine et le lipopolysaccharide (LPS) (Sheldon *et al.* 2010). Pour *T. pyogenes*, responsable des lésions utérines les plus graves et persistantes, la pathogénicité repose sur la sécrétion d'une cytotoxine appelée pyolisine : capable de créer des pores dans la membrane cellulaire, elle entraîne la mort de cellules épithéliales de l'endomètre *in vitro* (Miller, 2009). Quant à *Bacteroides*, elle libère des substances qui empêchent la phagocytose bactérienne (Sheldon *et al.* 2010).

### **I.1.2. Activation du système de défense innée**

La première ligne de défense de l'endomètre contre la colonisation bactérienne est le système de défense inné. Cette voie est la principale responsable de l'élimination de la contamination bactérienne après la parturition (Wira *et al.* 2004, Sheldon *et al.* 2009b). Ce système inclut les barrières anatomiques et physiologiques qui préviennent l'entrée des bactéries et les défenses cellulaires locales pour les neutraliser (Baumann *et al.* 1994, Beutler *et al.* 2003).

#### **I.1.2.1. Les barrières anatomiques et physiologiques**

Les voies génitales, avec notamment le col de l'utérus, offrent habituellement une barrière anatomique efficace contre l'entrée de pathogènes. La vulve constitue le premier rempart contre la contamination fécale (Hussain 1989). Le vestibule (avec son sphincter) ainsi que le col, composé d'anneaux cartilagineux rigides et de replis muqueux, permettent une quasi étanchéité du système. Cependant, en post-partum, ces voies génitales subissent une

importante dilatation, qui compromet alors leur rôle de barrière : en effet, 96h après le vêlage, la dilatation du col permet encore le passage de deux doigts.

### **I.1.2.2. Défenses cellulaires locales**

#### **I.1.2.2.1. La reconnaissance des pathogènes**

Si les barrières anatomiques sont abolies, l'invasion bactérienne est rapidement détectée par des cellules immunitaires spécialisées (macrophages) ainsi que par les cellules de l'endomètre. Les cellules épithéliales de l'endomètre constituent une barrière protectrice efficace contre la pénétration des bactéries dans les couches profondes de la muqueuse utérine en post-partum. Cette barrière est d'abord physique, grâce aux jonctions serrées existant entre les cellules (Wira *et al.* 2005).

Mais les cellules épithéliales jouent également un rôle immunitaire primordial dans la reconnaissance et la réponse aux pathogènes. Elles possèdent en effet des récepteurs de l'immunité innée, des Toll-like receptors (TLRs), qui sont capables de reconnaître certains ligands bactériens : des séquences conservées (PAMPs pour pathogen-associated molecular patterns), le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane d'*E. coli*, la pyolysine de *Trueperella pyogenes*, le virus Herpes bovin de type 4 (BoHV-4), l'ADN et les lipides bactériens (Herath *et al.* 2009, Sheldon *et al.* 2009a). L'activation du système TLR produit des médiateurs pro-inflammatoires, les cytokines, qui guident la réponse immunitaire innée.

#### **I.1.2.2.2. La production de cytokines par les cellules épithéliales**

Les cytokines sont des glycoprotéines qui interviennent dans la communication à courte distance entre cellules. Elles jouent un rôle particulièrement important dans le système de défense. Il en existe une centaine qui sont classées selon leur homologie de structure : on trouve notamment les interleukines (IL), le Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), les chimiokines et les interférons. Peu après la détection du pathogène par le système TLR, les cellules épithéliales utérines vont sécréter des cytokines telles que l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8, IL-12, le TNF- $\alpha$  ainsi que de l'oxyde nitrique (Young *et al.* 2002, Wira *et al.* 2005).

Ces cytokines vont alors moduler la réponse immunitaire : par exemple, l'IL-1 va provoquer une augmentation du taux de calcium plasmatique, qui stimule la contraction du myomètre et l'expulsion des débris tissulaires de la lumière utérine (Sugimoto et Narumiya, 2007). L'action des interleukines porte essentiellement sur trois points : le recrutement des leucocytes sanguins, la sécrétion de protéines de la phase aiguë (PPAs) par le foie, et la sécrétion de peptides antimicrobiens.



#### I.1.2.2.3. Le recrutement des leucocytes et la phagocytose

Au moment du vêlage et en post-partum immédiat, les leucocytes sont recrutés à partir de la moelle osseuse et de la circulation sanguine et dirigés vers le site de colonisation bactérienne qu'est l'utérus (Singh *et al.* 2008). L'essentiel de la population phagocytaire qui afflue alors vers la lumière utérine est constitué par les granulocytes neutrophiles (Kim *et al.* 2005). Cet afflux de neutrophiles et leur diapédèse vers la lumière utérine sont favorisés par plusieurs facteurs (Sugimoto et Narumiya, 2007) :

- le pouvoir chimiotactique qu'exercent les cytokines libérées par l'endomètre
- la vasodilatation utérine sous l'effet de l'IL-1
- l'augmentation de la perméabilité vasculaire sous l'effet des produits de dégranulation des mastocytes.

Cette migration de leucocytes vers l'utérus post-partum (ainsi que vers la mamelle ; Mateus *et al.* 2002) se traduit par une chute de la concentration en leucocytes circulants (leucopénie) pendant la première semaine après le vêlage.

L'activité de phagocytose utérine peut être attribuée à 80% aux granulocytes neutrophiles et à 20% aux macrophages. La phagocytose est un phénomène induit qui peut se faire de deux manières différentes, suivant la résistance de la bactérie considérée (Simon, 2009) :

- sans opsonisation : il y a alors une interaction directe entre le récepteur à la surface des phagocytes et l'antigène.
- avec opsonisation : l'interaction nécessite une molécule supplémentaire, l'opsonine, qui joue alors le rôle d'adaptateur entre la bactérie et le leucocyte.

Ensuite la phagocytose se poursuit par une phase d'adhérence, puis une phase où des pseudopodes viennent entourer la bactérie puis former une vacuole appelée phagosome. Enfin une phase de destruction permet une digestion totale de la bactérie (Simon, 2009).

### **I.1.3. Activation du système de défense acquis**

L'immunité innée est la première à être activée, mais elle est ensuite complétée par la mise en place de l'immunité acquise, composée de l'immunité humorale et de l'immunité cellulaire. Les lymphocytes sont les cellules majeures de la réponse immunitaire acquise. Ils sont principalement de 2 types (Simon, 2009) :

- D'une part les lymphocytes B (LB), dont la lettre « B » provient de la « Bourse de Fabricius » qui est un organe présent chez les oiseaux dans lequel les LB arrivent à maturité. Chez l'Homme, les lymphocytes B arrivent à maturité dans la moelle osseuse. Ils sont responsables de l'immunité humorale.
- D'autre part, les lymphocytes T (LT), dont la lettre « T » provient du « Thymus », organe humain dans lequel les LT arrivent à maturité. Ils sont le point de départ de l'immunité à médiation cellulaire.

Les lymphocytes ont différentes localisations suivant leur stade de maturité : ils sont présents au niveau des organes lymphoïdes secondaires, du sang et de la lymphe lorsqu'ils ne sont pas encore activés, et ont une localisation ubiquitaire lorsqu'ils sont activés.

L'immunité à médiation cellulaire joue un rôle prépondérant dans la défense utérine alors que la réponse humorale locale semble plus limitée (Mestecky *et al.* 2005), même si l'endomètre est capable de synthétiser des anticorps spécifiques (Corbeil *et al.* 1974a, Butt *et al.* 1993).

### **I.1.3.1. Activation de l'immunité humorale**

L'immunité humorale est assurée par des molécules circulantes spécifiques des antigènes, les immunoglobulines (Ig), produites localement par les lymphocytes B. Ces immunoglobulines sont chargées de neutraliser les bactéries directement au niveau de la muqueuse utérine.

Les immunoglobulines de classe A, G et M ont été identifiées dans les sécrétions génitales de la vache (Mateus *et al.* 2002). Elles reflètent l'inflammation endométriale consécutive à la contamination bactérienne (Aknazarov, 1988). L'inoculation intra-utérine de *Trueperella pyogenes* engendre l'augmentation d'immunoglobulines spécifiques dans les sécrétions utérines (Watson *et al.* 1990). Les immunoglobulines agissent soit en lysant directement la bactérie, soit en l'opsonisant afin de faciliter la phagocytose, ou encore en activant le système du complément dans la lumière utérine (Butler, 1983).

Les IgG prédominent dans l'utérus alors que les IgA sont prépondérantes dans la partie postérieure du tractus génital de la vache (Corbeil *et al.* 1974b). Le principal mode d'action des IgA sécrétoires est l'inhibition ou la neutralisation de l'adhésion bactérienne à l'épithélium sans que d'autres phénomènes inflammatoires n'interviennent.

La production d'IgG provient de 2 sites : une fraction est synthétisée localement dans l'endomètre (IgG1) alors que l'autre partie provient de la transsudation du sérum (IgG2). Les IgG fixent et activent le système du complément. Elles peuvent également opsoniser les bactéries en vue de la phagocytose par les neutrophiles et les macrophages. Leur importance à la surface des plasmocytes utérins et dans les sécrétions génitales suggère que cette classe d'immunoglobuline est très importante pour la défense du tractus génital de la vache (Hussain *et al.* 1990).

Les IgM sont les immunoglobulines synthétisées le plus précocement et les plus efficaces pour l'agglutination et l'activation du système du complément, responsable de la lyse des pathogènes (Corbeil *et al.* 1974b, Mateus *et al.* 2002).

En résumé, les immunoglobulines agissent principalement de façon directe en lysant les bactéries, mais aussi indirectement en participant à l'opsonisation et la stimulation de la phagocytose (immunité innée).

### I.1.3.2. Activation de l'immunité à médiation cellulaire

Outre la composante humorale, la réaction utérine face à la contamination bactérienne fait également intervenir la composante cellulaire, qui met en jeu les lymphocytes T. L'endomètre est largement drainé par un réseau lymphatique et on y trouve infiltrés des plasmocytes, des lymphocytes et des macrophages présentateurs d'antigène. Il existe 2 types principaux de lymphocytes T :

- Les lymphocytes T CD8+ qui reconnaissent un antigène porté par une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type I. Ils se différencient généralement en lymphocytes cytotoxiques et produisent relativement peu de cytokines.
- Les lymphocytes T CD4+ qui reconnaissent un antigène porté par une molécule du CMH de type II. Leur action principale est la sécrétion de cytokines (IL-2), qui orientent et amplifient la réponse immunitaire, d'où le qualificatif de helper donné à ces lymphocytes T. On différencie deux types de CD4+ : les lymphocytes helper qui orientent vers une réponse cytotoxique (Th1) et ceux qui orientent vers une réponse plus humorale (Th2).

Les lymphocytes T helper sont environ deux fois plus nombreux dans la couche superficielle du stroma (*stratum compactum*) que dans la couche profonde (*stratum spongiosum*) et prédominent autour des conduits des glandes utérines (Paisley *et al.* 1986). Les lymphocytes T CD8+ sont observés principalement dans l'épithélium glandulaire et luminal mais également dans la couche superficielle du *stratum compactum* de l'utérus (figure 1).

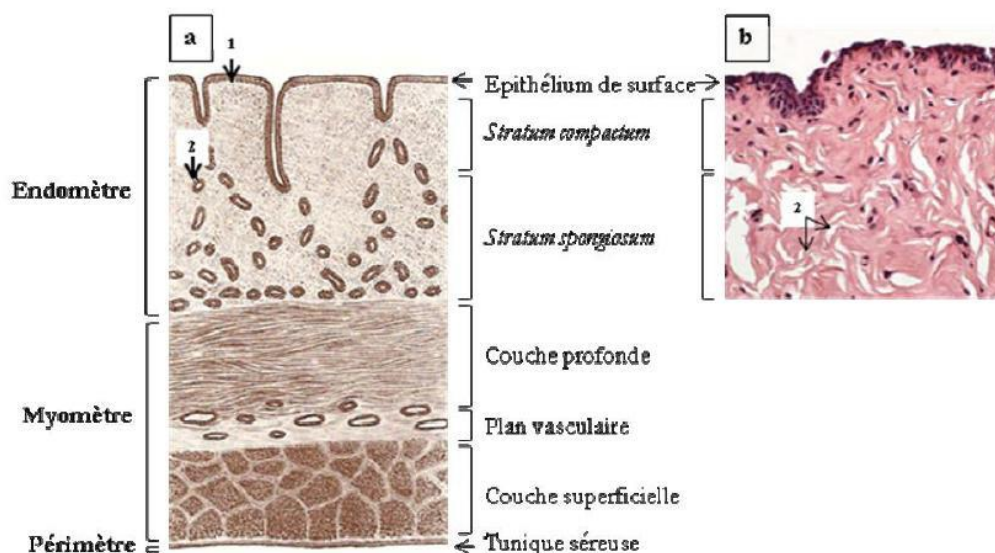


Figure 1 : Histologie de l'utérus non gravide de la vache

a. Aspect schématique (Pavaux 1981)

b. Coupe histologique d'endomètre bovin après biopsie utérine (5 à 8  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) colorée à l'hématoxyline-éosine (Chapwanya *et al.* 2009) :

1. Membrane basale
2. Glandes utérines

La population de lymphocytes endométriaux varie durant les différents stades de la gestation. En début et en milieu de gestation, ils sont en nombre réduit, évitant ainsi un rejet immunologique du fœtus. Puis leur concentration augmente en fin de gestation dans les zones intercaronculeuses, indiquant une fonction de reconnaissance et de protection contre les antigènes qui pénétreraient dans l'utérus (Singh *et al.* 2008). De nombreux lymphocytes T CD4+ et CD8+ sont infiltrés dans l'endomètre juste avant le part. L'immunité cellulaire utérine repose sur le pouvoir cytotoxique des lymphocytes T.

En résumé, l'utérus de la majorité des vaches est colonisé par une grande variété de bactéries au moment de la parturition. Jusqu'à la fin de la période d'involution, il existe un état d'équilibre entre la contamination bactérienne et les mécanismes de défense de l'animal, qui correspond en réalité à un système dynamique impliquant des vagues de croissance et d'inhibition de la multiplication bactérienne (Griffin *et al.* 1974). A la fin du processus d'involution utérine, vers 40-50 jours post-partum (JPP), le système immunitaire aboutit finalement à l'élimination des bactéries de la lumière utérine. L'utérus redevient le plus souvent stérile, fournissant un environnement adapté à mener à bien une nouvelle gestation. Ainsi, la prévalence d'utérus colonisés par des bactéries décroît au cours du post-partum : de 90% d'utérus contaminés au cours des 15 premiers JPP, ils ne sont plus que 78% entre 16 et 30 jours, 50% entre 30 et 45 jours, et enfin, seulement 9% entre 46 et 60 JPP (Elliott *et al.* 1968). L'élimination progressive de la contamination bactérienne est une caractéristique constante que l'on retrouve dans toutes les études bactériologiques ayant examiné des utérus bovins en post-partum (figure 2 ; Sheldon, 2004). La contamination bactérienne post-partum et la mobilisation de la réponse immunitaire sont donc, chez les bovins, physiologiques et transitoires.

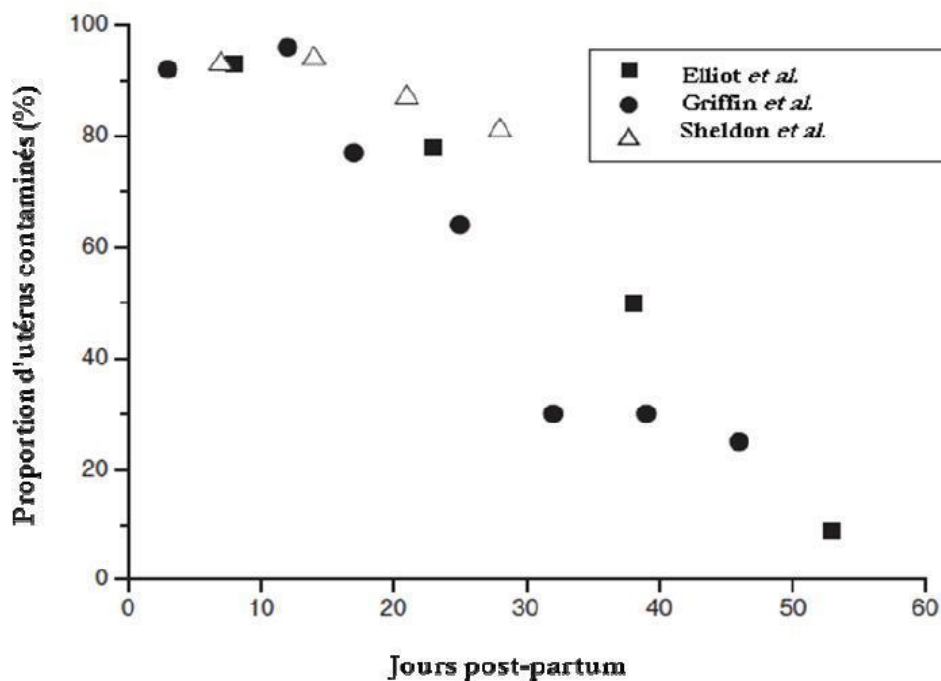


Figure 2 : Evolution de la proportion d'utérus bovins contaminés pendant la période post-partum (D'après Sheldon, 2004)

## **I.2. Persistance d'une inflammation utérine**

En post-partum, la contamination bactérienne et la réponse immunitaire qui en découle sont donc physiologiques et transitoires. Cependant, un déséquilibre entre la contamination bactérienne initiale et les mécanismes de défense de la vache peut exister et ainsi conduire à la persistance d'une inflammation superficielle de l'endomètre au-delà de 21 JPP. Cette inflammation peut être accompagnée (on parle alors d'endométrite clinique) ou non (on parle alors d'endométrite subclinique) de signes cliniques (Sheldon *et al.* 2009).

### **I.2.1. Dysfonctionnement du système immunitaire**

Une déficience de la réponse immunitaire de la vache est habituellement incriminée dans l'apparition des cas d'endométrite. Récemment, plusieurs études ont au contraire suggéré qu'une exacerbation du système immunitaire pouvait être responsable de la persistance d'une inflammation utérine au-delà de 21 JPP.

#### **I.2.1.1. Déficience du système immunitaire**

L'immunodépression existant en péri-partum est classiquement citée pour favoriser l'apparition d'infections, notamment des infections utérines ou mammaires.

Au cours de la deuxième semaine post-partum, la concentration sérique en TNF- $\alpha$  est diminuée chez les vaches qui développent une affection utérine (Chapwanya *et al.* 2009). Au contraire, cette concentration devient plus élevée lors des troisième et quatrième semaines post-partum chez les animaux présentant une endométrite (Hammon *et al.* 2006). Or la sécrétion de TNF- $\alpha$  est stimulée par l'intrusion de bactéries dans la lumière utérine. Ces résultats suggèrent qu'en raison d'une faible réponse immunitaire initiale, la contamination bactérienne n'est toujours pas contenue à 21 JPP, ce qui, par conséquent, contribue à maintenir des concentrations élevées en TNF- $\alpha$  chez les vaches atteintes d'une endométrite.

D'autre part, comme vu précédemment, la réponse immunitaire utérine est en grande partie assurée par la fonction de phagocytose des neutrophiles. Kim *et al.* (2005) observent une diminution de l'activité phagocytaire des neutrophiles (et plus précisément de l'activité bactéricide) chez les vaches présentant une endométrite, et cela, dès la période pré-partum. L'activité myéloperoxydase des neutrophiles sanguins (qui témoigne de l'activité bactéricide) diminue légèrement juste avant le vêlage pour se stabiliser rapidement en post-partum précoce chez les vaches qui resteront en bonne santé utérine. Chez les vaches qui développent plus tard une inflammation endométriale, Hammon *et al.* (2006) observent une réduction brutale et plus importante de cette activité en pré-partum. Une augmentation du pouvoir phagocytaire et du métabolisme oxydatif est observée après la première semaine post-partum chez les vaches présentant une résolution spontanée d'endométrite (Mateus *et al.* 2002). Ces résultats

suggèrent qu'une diminution du pouvoir bactéricide des neutrophiles sanguins autour du vêlage favorise le développement d'une inflammation génitale au-delà de 21 JPP.

Les mécanismes expliquant cette diminution de l'immunité autour du vêlage sont encore mal compris. Une des raisons fréquemment évoquée serait liée au statut énergétique de la vache en fin de gestation et début de lactation : un important déficit énergétique s'accompagne d'une diminution de la concentration sanguine en lymphocytes lors de la deuxième semaine post-partum comparé aux vaches en situation de déficit énergétique modéré (Wathes *et al.* 2009). D'autre part, des concentrations sanguines élevées en acides gras non estérifiés (AGNE) et en corps cétoniques en début de lactation seraient responsables de la diminution du chimiotactisme et de l'activité phagocytaire des neutrophiles (Hammon *et al.* 2006) : il en découle alors une plus grande sensibilité aux affections péri-partum. Ces modifications prédisposent la vache à des lésions persistantes de l'endomètre, lésions de fait plus longues à réparer, et donc associées à un phénomène inflammatoire chronique.

### **I.2.1.2. Exacerbation du système immunitaire**

A l'opposé, certaines observations laissent à penser qu'une exacerbation du système immunitaire autour du vêlage pourrait intervenir dans la persistance d'une inflammation utérine au-delà de 21 JPP.

Tout d'abord, le développement d'une endométrite est associé à un comptage plus élevé du taux de leucocytes plasmatiques en péri-partum, et ceci à partir de la première semaine avant le vêlage jusqu'à la quatrième semaine post-partum (Kim *et al.* 2005). Si on prend en compte non seulement l'activité des neutrophiles mais aussi leur nombre, la « capacité phagocytaire globale » des vaches est moins affectée que ne le laissaient penser les analyses plus anciennes (Sander *et al.* 2011).

De plus, l'expression de gènes codant pour des récepteurs de surface cellulaire des neutrophiles (CD45 et CD14) et pour des molécules effectrices de la réponse immunitaire (peptides antimicrobiens et protéines de phase aiguë) est amplifiée chez les vaches présentant une inflammation importante de l'endomètre (Chapwanya *et al.* 2009).

Herath *et al.* (2009) ont montré que les vaches qui développaient plus tard une endométrite présentaient une expression significativement plus élevée du TLR4 au cours de la première semaine post-partum que les vaches saines. Les TLRs sont d'autant plus présents que le degré d'atteinte de l'endomètre est important. Cependant, au-delà de la première semaine post-partum, cette différence n'est plus perceptible. La même étude décrit une augmentation de synthèse des médiateurs pro-inflammatoires comme les interleukines IL-1A et IL-1B et de leurs récepteurs IL-1R2 ainsi qu'une augmentation du ratio IL-1 (pro-inflammatoire) sur IL-10 (anti-inflammatoire). Les vaches atteintes d'une inflammation utérine semblent donc présenter une surexpression du système pro-inflammatoire, surexpression que les molécules anti-inflammatoires n'arrivent pas à endiguer.

En conclusion, les vaches souffrant d'endométrite semblent présenter une réponse immunitaire inappropriée en péri-partum. Le rôle de l'immunité innée a été particulièrement étudié et a montré des différences notables avec les vaches saines au cours des 5 premières semaines postpartum, période critique pour l'élimination des contaminations bactériennes et l'involution utérine complète. Malgré la baisse de l'activité phagocytaire la première semaine, l'endomètre fournit une réponse exagérément pro-inflammatoire, avec une expression accrue des molécules pro-inflammatoires sans modulation suffisante par les molécules anti-inflammatoires. Puis, vers la deuxième semaine après le vêlage, cette réaction semble s'éteindre avant de reprendre 5 à 7 semaines après le part (Herath *et al.* 2009).

Après avoir longtemps mis en cause une immunodépression péri-partum pour expliquer le développement des endométrites, il semble au contraire aujourd'hui que l'exacerbation de la réponse immunitaire autour du vêlage soit le principal facteur prédisposant aux atteintes de l'endomètre. Il faut également souligner que ces modifications sont déjà notables une semaine avant le vêlage, ce qui laisse penser que des facteurs responsables de l'incapacité des vaches à réguler leur réponse inflammatoire post-partum interviennent dès le pré-partum, au cours de la période de tarissement.

## **I.2.2. Conséquences de la persistance de l'inflammation utérine**

### **I.2.2.1. Modifications physiologiques**

La persistance d'une infiltration leucocytaire de l'endomètre bovin a été identifiée depuis longtemps comme une anomalie du processus d'involution utérine, et ainsi perturbant la fertilité (Gier et Marion 1968). Plus récemment, des troubles de la fonction ovarienne ont également été rapportés.

Comme vu précédemment, la phagocytose des bactéries est la principale ligne de défense de l'appareil génital face à la contamination bactérienne physiologique autour du vêlage. Or, ces cellules tuent les bactéries via leur métabolisme oxydatif, en produisant notamment des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène et de l'oxyde nitrique (NO) qui s'accumulent au niveau du site de l'inflammation. *In vitro*, le sperme bovin exposé à un stress oxydant voit sa motilité fortement diminuée. Les ovocytes fécondés avec ce sperme ont des taux de clivage et de développement jusqu'au stade blastocyte diminués de l'ordre de 10 à 15 points (Hendricks et Hansen 2010).

Les vaches dont l'utérus est contaminé par des bactéries présentent une croissance folliculaire réduite (diminution du nombre de follicules en croissance et du diamètre folliculaire), des concentrations plasmatiques en œstrogènes et progestérone moindres, ainsi qu'un risque d'anœstrus plus important (Sheldon *et al.* 2002 ; Williams *et al.* 2007). La diminution de la croissance folliculaire est surtout associée à la présence d'*E. coli* dans la lumière utérine (Williams *et al.* 2007). Les germes ne sont pas spécifiquement retrouvés dans les ovaires, par contre une concentration mesurable en LPS est détectée dans le liquide

folliculaire des vaches infectées par *E. coli*. Ce même LPS serait responsable d'une diminution de la sécrétion d'œstradiol par la granulosa (Herath *et al.* 2007).

Les molécules pro-inflammatoires, telle que la cytokine IL-6, affectent également la stéroïdogénèse des cellules de la granulosa (Herath *et al.* 2006a). Il semble donc que les cellules de la granulosa aient des capacités immunitaires qui leur permettent de détecter l'infection bactérienne (LPS) et la réponse immunitaire associée (cytokines).

Du fait de la croissance réduite du follicule dominant et d'une moindre œstradiolémie, l'expression des chaleurs et l'ovulation sont perturbées et, chez les vaches qui ovulent, la taille du corps jaune 5 à 7 jours après l'ovulation est réduite et la progestéronémie est inférieure à celle de vaches saines (Williams *et al.* 2007).

Enfin, chez les vaches atteintes d'inflammation utérine, il existe un risque de phase lutéale prolongée. Chez les ruminants, les prostaglandines F (PGF) sont lutéolytiques, alors que les prostaglandines E ont une action lutéotrope. En réponse au LPS, le ratio PGE sur PGF est modifié vers une accumulation de l'agent lutéotrope, ce qui peut conduire à des corps jaunes persistants (Herath *et al.* 2009).

En plus de cette action intra-utérine, les médiateurs de l'inflammation, les produits du métabolisme oxydatif et les produits bactériens, ont également des actions systémiques qui interfèrent avec la reproduction. Ils ont notamment une action sur le système nerveux central en provoquant une diminution de la sécrétion hypophysaire de LH.

### **I.2.2.2. Conséquences sur les performances de reproduction**

La croissance folliculaire, l'ovulation et la survie de l'embryon se trouvent donc perturbées en cas d'inflammation utérine, qu'elle soit clinique ou subclinique. C'est pourquoi les endométrites cliniques sont associées à une diminution d'environ 20% du taux de réussite en première insémination, une réduction de près de 20% du taux de gestation à 150 JPP, un allongement d'une trentaine de jours de l'intervalle vêlage-insémination fécondante (IVIF) et une augmentation de 73% du risque de réforme pour infertilité (Sheldon *et al.* 2009 ; Leblanc *et al.* 2002). Les formes subcliniques sont associées à un allongement de l'IVIF et une diminution de près de moitié du taux de gestation à 150 JPP par rapport aux animaux sains (Kasimanickam *et al.* 2004). Barlund *et al.* (2008) observent un retard de 24 jours pour le retour des chaleurs après vêlage des vaches atteintes d'endométrite subclinique contre 32 jours pour Leblanc *et al.* (2002) et même 88 jours pour Gilbert *et al.* (2005). La réussite à la première insémination est également altérée puisque Gilbert *et al.* (2005) constatent seulement 11% de réussite pour les vaches atteintes contre 36% pour les vaches indemnes.

### **I.2.2.3. Conséquences économiques**

Sur un plan économique, une inflammation utérine pathologique peut avoir un impact important pour l'élevage bovin, et notamment l'élevage laitier. L'estimation financière de l'impact des inflammations utérines nécessite le calcul des coûts directs (diminution de la production laitière, mobilisation de l'éleveur, coût du vétérinaire, coût du traitement) et indirects (augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage, du nombre d'inséminations, du risque de réforme) de l'infertilité. Le coût total d'un cas d'endométrite clinique a ainsi été évalué en



moyenne à 161,58 £ (soit 192,7€ ; étude sur 90 élevages au Royaume-Uni), avec des coûts indirects (90,77 £) supérieurs à l'impact direct de la maladie (70,81 £) (Kossaibati et Esslemont 1997). Sachant que le cheptel laitier en Europe compte plus de 24 millions de têtes, le coût annuel des endométrites représenterait dans cette zone un minimum de 268 millions d'euros, et ce, sans considérer les formes subcliniques ni les cas non déclarés aux vétérinaires.

D'autre part, le réseau sentinelle NADIS (National Animal Disease Information Service) a révélé une prévalence de plus en plus importante des endométrites au cours de la dernière décennie. Par exemple en 2006, c'est près de 6% des bovins du Royaume-Uni qui ont nécessité l'intervention d'un vétérinaire pour le traitement d'une endométrite clinique, contre 3,5% en 2001 (Williams *et al.* 2008).

Compte tenu de l'augmentation de l'incidence des endométrites ainsi que des coûts engagés, un diagnostic précis de l'inflammation utérine apparaît dès lors indispensable.

## **II. Les techniques actuelles de caractérisation du statut inflammatoire utérin**

De nombreuses techniques peuvent être employées pour diagnostiquer les endométrites de la vache. 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. Avant tout, un rappel sur la définition des termes employés s'impose.

### **II.1. Définitions**

Le sujet des infections utérines souffrait jusqu'à récemment d'une multitude de termes, un même mot prenant parfois des significations différentes selon l'auteur, à l'origine de confusions (Chastant-Maillard et Fournier 2011). Grâce à la publication de Sheldon *et al.* (2006), un consensus international a désormais été adopté sur la terminologie des affections utérines.

Le terme de métrite est attribué à l'infection utérine intervenant dans les 21 JPP avec, au moins transitoirement, une atteinte de l'état général (hyperthermie supérieure à 39,2° C).

L'endométrite est l'infection utérine au-delà de 21 JPP, sans atteinte de l'état général. L'examen cytologique, consistant à prélever des cellules dans la cavité utérine à l'aide d'une cytobrosse (ou lavage utérin) par cathétérisme utérin et à compter la proportion de neutrophiles sur le frottis, a permis de définir plusieurs formes d'endométrite. On distingue alors les endométrites cliniques des formes subcliniques. Dans les endométrites cliniques, il y a présence de pus dans les sécrétions vaginales et/ou un diamètre du col supérieur à 7,5 cm. Ces signes sont absents dans les endométrites subcliniques, caractérisées uniquement par un taux de neutrophiles anormalement élevé sur le frottis utérin.

Le pyomètre est une forme particulière d'endométrite clinique avec la présence d'un corps jaune et l'accumulation d'une grande quantité de pus dans la cavité utérine. Le volume

de l'utérus est nettement augmenté, à la différence des cas d'endométrite clinique classique, où la quantité de pus formé est très limitée.

## **II.2. Examens utérins**

Ces techniques reposent sur la recherche directe d'une inflammation *in situ*.

### **II.2.1. Examen cytologique**

C'est Gilbert *et al.* (1998) qui furent les premiers à proposer l'examen cytologique endométrial chez les bovins. Il fut ensuite repris par Kasimanickam *et al.* en 2004 pour démontrer l'existence de formes subcliniques d'endométrite et leur impact sur les performances de reproduction.

Plusieurs dispositifs de prélèvement permettent chez la vache la collecte des cellules endométriales, selon qu'elle s'effectue par le lavage (cathéter d'insémination et seringue stérile) ou l'écouvillonnage utérin (écouvillon de coton ou cytobrosse). Le lavage utérin collecte des cellules provenant d'une plus grande surface de l'utérus mais se heurte parfois à des difficultés de recueil de matériel biologique : Kasimanickam *et al.* (2005) rapportent une absence de liquide aspiré à la seringue chez 17% des vaches. La méthode la plus fréquemment utilisée dans la littérature utilise une cytobrosse : les cellules sont collectées dans le corps utérin, juste en arrière de l'ostium interne du col. Par ailleurs, l'examen cytologique réalisé au moyen d'une cytobrosse présente une plus grande répétabilité que celui effectué à partir du liquide de lavage utérin : 0,85 contre 0,76 (Barlund *et al.* 2008).

Après réalisation d'un frottis cytologique, les lames sont colorées par la coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG), puis examinées au microscope optique. La classification des populations cellulaires repose sur une reconnaissance morphologique, complétée par le calcul, selon les études, des proportions de sous-populations leucocytaires ou de la proportion de neutrophiles par rapport au total des cellules nucléées (Sheldon *et al.* 2009a). L'identification des neutrophiles, des cellules endométriales et des débris cellulaires serait plus aisée à effectuer sur des prélèvements réalisés au moyen de la cytobrosse que par lavage utérin (Barlund *et al.* 2008). La limite majeure de cette technique est le délai entre le moment du prélèvement et le résultat, ainsi que le temps nécessaire à la lecture des prélèvements. Le prix de revient de cet examen est très limité à condition que la coloration et la lecture se fassent au cabinet (moins d'1€ de matériel consommable par lame), mais il faut compter 15 min de travail par lame (10 min de coloration et 5 min de lecture). En laboratoire privé, la lecture est de l'ordre d'une vingtaine d'euros HT.

Actuellement, c'est cette technique de cytologie après prélèvement par cytobrosse qui est considérée comme le « gold standard » pour l'identification des vaches atteintes d'endométrite. Cependant son utilisation se limite pour l'instant aux études expérimentales de par la difficulté à la mettre en œuvre sur le terrain par le vétérinaire praticien.

### **II.2.2. Examen histologique**

L'examen histologique implique la réalisation d'un prélèvement au moyen d'une pince à biopsie utérine. Il est recommandé de réaliser 2 ou 3 prélèvements sur chaque corne utérine quelques centimètres en avant du col utérin (Chapwanya *et al.* 2010). Les prélèvements obtenus sont directement placés dans une solution formolée fixatrice.

L'interprétation des résultats doit tenir compte du stade du cycle œstral au moment du prélèvement. En effet, le nombre de granulocytes neutrophiles (GNN) augmente en phase péri-œstrale (Hanzen *et al.* 2009). D'après Barlund *et al.* (2008), sur la base du taux de gestation à 120 JPP, l'examen histologique associé ou non à la palpation, est beaucoup plus apte à identifier les animaux qui présentent une endométrite entre 26 et 40 JPP que ceux qui n'en présentent pas (sensibilité bien meilleure que la spécificité).

Certains auteurs n'ont observé aucun effet délétère des biopsies utérines (Bonnett *et al.* 1993). D'autres, au contraire, n'ont pas exclu la possibilité d'effets néfastes sur la santé, la cyclicité et la fertilité des vaches prélevées (Chapwanya *et al.* 2010). Si son innocuité était confirmée par d'autres travaux, le délai nécessaire à l'analyse histologique ainsi que son coût, bien supérieur à celui d'un frottis cytologique (de l'ordre d'une cinquantaine d'euros par animal pour la lecture histologique) constitueront néanmoins des freins à son utilisation à grande échelle (Deguillaume 2010).

### **II.2.3. Examen bactériologique**

L'examen bactériologique peut être mis en œuvre grâce à 2 types de prélèvements : la biopsie utérine ou l'écouvillon bactérien. Il existe un troisième mode de prélèvement, au moyen de la cuillère de Florent, mais elle ne sera pas retenue à cause des contaminations vaginales. L'écouvillon bactérien, le plus utilisé de par son faible coût, se présente sous la forme d'une capsule stérile de coton ou de gélatine, fixée à l'extrémité d'une tige plastique et protégée d'une gaine stérile double. Ce dispositif est relativement souple et d'un diamètre conséquent (9 mm), ce qui ne facilite pas son insertion à travers le col de l'utérus. La nécessité d'un prélèvement stérile représente la deuxième difficulté technique. En effet, dans les conditions d'élevage, la contamination par les poussières et autres éléments volatils est presque inévitable. L'obstacle principal réside donc dans l'interprétation du résultat et dans la discrimination des contaminants pathogènes et opportunistes. En raison de la fréquente contamination des prélèvements, la mise en évidence d'un agent pathogène n'a de valeur que s'il est retrouvé plusieurs fois sur le même animal, s'il fait partie des germes reconnus comme pathogènes ou si sa présence est concomitante à des lésions histologiques (Deguillaume 2010). Enfin le délai d'obtention des résultats est de 48 heures. Cette méthode de diagnostic est donc réservée à des situations d'élevage spécifiques telles que des endométrites enzootiques ou résistantes à des traitements classiques. Deguillaume (2010) montre les limites de cette méthode : 36% des cas d'inflammation endométriale (GNN > 6%) ne donnent lieu à

aucune croissance bactérienne. Cela confirme donc que l'utérus peut être dans un état inflammatoire (avec les conséquences sur les performances de reproduction) en l'absence de bactérie. Ce serait donc plus l'inflammation que l'infection qui serait à l'origine de la dégradation des performances de reproduction.

#### **II.2.4. Palpation transrectale**

De façon certaine, la palpation transrectale (PTR) constitue la technique la plus économique de diagnostic de l'involution, c'est pourquoi elle est employée de façon courante par tous les vétérinaires. La palpation permet d'accéder au volume, au diamètre et à la consistance de l'utérus, donc à l'involution anatomique de l'organe.

Historiquement, le contrôle d'involution utérine prévoit en France d'évaluer le diamètre des cornes à leur base (environ 4 cm à l'état normal), le diamètre du col (inférieur à 7,5 cm) et la consistance utérine (ferme, absence de flot liquidien) (Coche *et al.* 1987). Comme vu précédemment, depuis le consensus international, l'endométrite clinique est définie par la présence d'écoulement vaginal purulent et/ou un diamètre cervical supérieur à 7,5 cm au-delà de 21 JPP (Leblanc *et al.* 2002).

Le diamètre cervical ( $\geq 7,5$  cm) semble être le critère le plus fiable dans la recherche d'une inflammation utérine, avec une sensibilité de 36% et une spécificité de 89% selon l'étude de Deguillaume (tableau 2). La palpation en elle-même n'est pas suffisante pour apporter avec certitude le diagnostic d'endométrite (Sheldon *et al.* 2006). Sa subjectivité ne fait pas d'elle une bonne technique diagnostique. L'involution (typiquement taille et consistance du col et des cornes) varie avec chaque vache et sa perception avec chaque utilisateur.

La palpation des cornes utérines offre l'avantage, outre sa capacité à détecter la présence ou non de structures ovariennes, de pouvoir induire un écoulement vaginal, qui pourra être observé attentivement par la suite (Hanzen *et al.* 2009).

Bien que la palpation transrectale constitue la technique la plus facile de mise en œuvre (technicité, coût, durée), seul le diamètre cervical est, parmi tous ces critères, associé à la présence d'endométrite (Leblanc *et al.* 2002).

#### **II.2.5. Echographie transrectale**

L'échographie permet de facilement mettre en évidence la présence de liquide. Or, en cas d'endométrite, l'accumulation importante de pus dans l'utérus reste rare, exception faite du pyomètre, dont l'image échographique est caractéristique. Le contenu utérin est alors hétérogène et d'aspect floconneux (figure 3) et un corps jaune est observable sur un des deux ovaires. Les amas de pus en suspension peuvent être mobilisés en exerçant une succussion de l'utérus grâce à la sonde.

Lors de pyomètre, un épaissement de la paroi utérine peut être observé. Lors d'endométrite clinique, l'accumulation de pus est beaucoup moins importante que lors de pyomètre, le diagnostic échographique est alors beaucoup moins aisé. Néanmoins, dans certains cas, une zone anéchogène peut être observée en partie crâniale et déclive de l'utérus (Hanzen *et al.* 2009). On constate alors de nombreuses petites accumulations liquidiennes responsables d'une échogénicité fortement hétérogène. A l'heure actuelle, aucune publication ne décrit d'image échographique pathognomonique de l'endométrite, même si Kasimanickam *et al.* indiquent considérer comme critère la présence de « liquide dans l'utérus », sans fournir aucune image, ni indication précise (Deguillaume 2010). En résumé, à part les cas de pyomètre, le diagnostic échographique des endométrites reste très difficile et incertain, et serait à l'origine d'un nombre élevé de faux-positifs (animaux traités à tort) (Chastant-Maillard et Fournier 2011). Il convient donc de réaliser un diagnostic différentiel avec toutes les situations où du liquide peut se rencontrer dans l'utérus, pour des raisons physiologiques ou pathologiques (œstrus, kyste folliculaire, gestation, mortalité embryonnaire).

Barlund *et al.* (2008) ont testé l'échographie dans la détection des endométrites : l'évaluation des fluides utérins donnait les résultats de sensibilité et spécificité de 30,8% et 92,8% alors que la mesure de l'épaisseur de la paroi utérine donnait les performances suivantes : 3,9% et 89,2%.

L'échographie est une méthode non invasive qui autorise une détection plus fine des modifications du tractus génital que ce que permet la palpation transrectale. Le prix d'un échographe et de sa sonde linéaire varie entre 4 000€ et 13000€ HT. Le coût comprend l'équipement (achat, maintenance, dépréciation), les consommables et éventuellement les formations pour l'apprentissage. C'est donc un investissement non négligeable pour le vétérinaire. D'autre part, la valeur diagnostique de l'échographie, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, repose sur l'habitude et l'habileté de chacun, et est donc « opérateur-dépendante ».

### **II.3. Examens vaginaux**

L'examen vaginal complète l'inspection visuelle de la région vulvaire et la palpation manuelle du tractus génital par palpation transrectale. Le diagnostic vaginal comprend à la fois l'observation macroscopique des sécrétions contenues dans la cavité vaginale, le dosage des constituants biochimiques du mucus ainsi que la cytologie vaginale.

#### **II.3.1. Aspect macroscopique des sécrétions vaginales**

Les endométrites cliniques se caractérisent par la présence de pus mélangé aux sécrétions vaginales (Sheldon *et al.* 2009b). L'inspection de la queue de l'animal et des traces sur le sol constitue la première étape de l'examen vaginal. Mais cet examen doit être complété

par l'observation du contenu vaginal directement *in situ*, ou de son recueil à l'aide de différents dispositifs.

Classiquement, l'examen vaginal comprend la vidange manuelle du contenu vaginal à l'aide d'une main gantée et l'observation directe à l'aide d'un vaginoscope (en plastique) ou d'un spéculum. En 2002, une sonde intravaginale spécifique surmontée d'une cupule en silicone à fond noir (Metricheck®, Simcro, Hamilton, Nouvelle-Zélande) a été conçue afin de faciliter le recueil et l'examen des sécrétions (figure 3).



Figure 3 : Sonde Metricheck®.

Tige en acier inoxydable de 500 mm de long, surmontée d'une cupule hémisphérique de silicone de 40 mm de diamètre.

([http://www.simcro.com/Product\\_Range/Specialised\\_Items/index.html](http://www.simcro.com/Product_Range/Specialised_Items/index.html))

L'étape de désinfection du matériel et de nettoyage de la région périnéale constitue un préalable indispensable à la bonne conduite du protocole. Il existe un débat concernant l'étape de lubrification du matériel : elle est indispensable selon Mee (2007) pour éviter les lésions par abrasion de l'orifice urétral ou du vagin, mais elle présente le désavantage de fausser la nature des sécrétions recueillies, par dilution du matériel purulent (Deguillaume 2010). Une lubrification minimale peut être obtenue en plongeant la sonde dans de l'eau.

Le mucus vaginal recueilli peut être classé en différentes catégories selon la proportion et le volume de pus collecté. Williams *et al.* (2005) ont proposé une méthode de notation fondée sur la nature et le volume de l'écoulement (figure 4).



Figure 4 : Classification du mucus vaginal proposée par Williams *et al.* (2005).

Proportion de pus :

- 0 : mucus clair et translucide
- 1 : mucus contenant des flocons blancs
- 2 : volume de l'écoulement inférieur à 50 ml renfermant moins de 50% d'écoulements mucopurulent, blanc
- 3 : volume supérieur à 50 ml contenant du pus blanc ou jaunâtre, voire sanguinolent

Dans l'étude de Williams *et al.* (2005), le score de mucus vaginal était mis en relation avec la contamination bactérienne de l'utérus, évaluée par un écouvillonnage utérin. Il en ressort que les endométrites sont définies par la présence de sécrétions muco-purulentes (note de 2) à purulentes (note de 3). Le spéculum, le vaginoscope et le Metrichick® donnent des résultats comparables pour le diagnostic des formes cliniques. La spécificité et la valeur prédictive positive d'un diagnostic par vaginoscope ou Metrichick® sont significativement supérieures à celui d'un diagnostic par palpation transrectale (Mee 2007). La sensibilité de l'inspection des sécrétions utérines dans le diagnostic d'endométrites cliniques est de 61%, la spécificité de 87%, une valeur prédictive positive de 88% et négative de 59% (Mee et Dalemans, 2007).

Selon les dispositifs utilisés, le coût de l'examen varie du simple au double. Il faut compter en moyenne 70 € HT pour un vaginoscope en plastique alors que l'achat d'un Metrichick® coûte en moyenne 30 € HT. Enfin, la vidange manuelle constitue l'examen le moins coûteux, sachant qu'une boîte de 100 gants d'examen coûte moins de 10 € HT.

### II.3.2. Dosages biochimiques

Une fois l'écoulement vaginal recueilli par une des méthodes préalablement décrites, une analyse biochimique de ses constituants peut être entreprise. En plus des marqueurs de l'immunité innée (leucocytes), les sécrétions cervico-vaginales contiennent des marqueurs de l'immunité humorale, principalement les Ig A et Ig G. La transsudation du sérum en reste la source principale, même si une synthèse locale dans le col et le vagin semble possible. Un dosage direct des différents types de protéines (protéines totales, albumine, lactoferrine et immunoglobulines) dans les sécrétions vaginales a été proposé par Mascarhenas en 1987. Ainsi, pour chaque substance dosée, les seuils de concentration au-dessus desquels la fertilité était significativement diminuée ont été déterminés (tableau 1).

Marqueur	Seuil	Taux de réussite à l'insémination	Test du Chi-deux
Protéines totales	< 3 mg/ml	60,3 %	$P < 0,05$
	$\geq 3$ mg/ml	52,6 %	
Albumine	< 50 $\mu$ g/ml	62,9 %	$P < 0,05$
	$\geq 50$ $\mu$ g/ml	50,0 %	
IgG1	< 40 $\mu$ g/ml	63,0 %	$P < 0,05$
	$\geq 40$ $\mu$ g/ml	48,5%	
IgG2	< 40 $\mu$ g/ml	64,2 %	$P < 0,05$
	$\geq 40$ $\mu$ g/ml	50,9 %	
IgAs	< 50 $\mu$ g/ml	64,6 %	$P < 0,05$
	$\geq 50$ $\mu$ g/ml	50,7 %	

Tableau 1 : Seuils de concentration en composants des sécrétions vaginales en relation avec le taux de réussite à l'insémination.

(n = 281 ; Mascarhenas 1987)

Ig : Immunoglobuline ; s : sécrétoire

Cependant, alors que les concentrations en IgG et en albumine des sécrétions utérines sont de bons marqueurs de l'endométrite, les résultats sont moins favorables quand les dosages se font sur le mucus vaginal (Deguillaume 2010). Ceci est probablement imputable à la sécrétion essentiellement locale (au niveau du col et du vagin) de la glaire vaginale. Les sécrétions de l'endomètre se trouvent donc particulièrement diluées dans la cavité vaginale. De plus, en cas de sécrétions purulentes, l'origine du pus peut être complètement extérieure au tractus génital, comme lors d'infection vésicale ou rénale. Les marqueurs dosés dans le mucus vaginal ne sont alors pas le reflet de l'état inflammatoire de la cavité utérine (Deguillaume 2010).

Le manque de spécificité du dosage biochimique des sécrétions vaginales constitue donc un frein à son utilisation en pratique.

### **II.3.3. Cytologie vaginale**

Comme vu précédemment, la cytologie utérine semble la technique la plus fiable pour détecter les vaches atteintes d'endométrite. Or ce prélèvement semble peu réalisable en pratique. En effet, contrairement à la jument, le cathétérisme du col n'est pas toujours aisé à réaliser chez la vache, notamment en période inter-œstrus, car le col et ses anneaux cartilagineux sont fermés. Arocena et Gascué (2012) eurent alors l'idée de réaliser le même type de prélèvement, mais au niveau du vagin, le cathétérisme du col n'étant alors plus indispensable. La lecture des lames suivait le même principe, en évaluant la proportion de granulocytes neutrophiles par rapport aux cellules totales. Cette méthode ne permit pas de détecter les endométrites (identifiées dans cette expérience par cytologie utérine), mais une détection de l'inflammation génitale (au niveau du col et/ou de l'utérus) était possible : au seuil de 6% de neutrophiles vaginaux, la sensibilité du test était de 57% et la spécificité de 61%. Cependant, cette étude reposait sur un très faible effectif, sa répétabilité reste donc encore à prouver.

## **II.4. Examens sanguins**

Les marqueurs sanguins offrent un moyen peu invasif d'évaluation de l'inflammation génitale. Les analyses proposées consistent en un dosage des protéines de phase aiguë, des prostanoïdes, et d'un marqueur de la dégradation du collagène.

### **II.4.1. Dosage des protéines de la phase aiguë**

Les protéines de la phase aiguë (PPAs) font partie du système immunitaire inné de l'organisme et leur concentration augmente lors de réaction inflammatoire. Les protéines plasmatiques telles que la céruloplasmine et la glycoprotéine acide- $\alpha$ 1 présentent une augmentation plus modérée en cas d'inflammation. Le suivi de la concentration sérique des PPAs, et notamment l'haptoglobine, paraît dès lors utile dans l'évaluation des processus inflammatoires des bovins.



Sheldon *et al.* (2001) ont montré que la concentration des PPA était associée au score de croissance bactérienne de l'écouvillonnage utérin. Cependant, la valeur diagnostique de cette augmentation de concentration des PPA semble faible dans l'identification spécifique d'une inflammation génitale, du fait qu'elle se produit lors de tout processus inflammatoire. De plus, les PPA semblent réagir uniquement aux processus génitaux du post-partum immédiat. Ainsi, les PPA sont décrites comme de bons marqueurs de la métrite (infection utérine dans les 21 premiers JPP), mais les endométrites cliniques ne sont pas associées à une augmentation de la concentration plasmatique en haptoglobine (Skinner *et al.* 1991).

Reste à savoir si les PPA peuvent avoir un rôle dans l'identification des processus inflammatoires subcliniques utérins, dans la mesure où elles sont retrouvées lors de mammites subcliniques (Chan *et al.* 2009).

#### **II.4.2. Dosage des prostanoides**

La demi-vie des prostanoides étant très courte, leur dosage repose sur l'évaluation de la concentration plasmatique des métabolites stables des prostaglandines F<sub>2α</sub> et E<sub>2</sub>, PGFM et PGEM respectivement.

Dans l'étude de Del Vecchio *et al.* (1992), l'inoculation de bactéries dans la lumière utérine s'accompagne d'une augmentation de la concentration plasmatique en PGFM par rapport au groupe témoin. La concentration en PGFM serait donc un indicateur de l'infection utérine chez les bovins. Cependant, plus qu'une sécrétion élevée et prolongée de PGF<sub>2α</sub>, c'est la diminution du rapport PGF<sub>2α</sub>/PGE<sub>2</sub> qui favorise le développement d'une inflammation utérine (Slama *et al.* 1991). Il apparaît alors intéressant de mesurer le rapport PGFM/PGEM : une baisse de ce rapport permettrait de confirmer un retard d'involution utérine, donc un risque accru d'endométrite (Hanzen *et al.* 2009).

Une méthode ELISA permet d'obtenir ces dosages au cabinet, mais nécessite l'achat d'une gamme d'échantillons dont le coût est très élevé (500 € HT pour une gamme de 30 échantillons) (Deguillaume 2010).

#### **II.4.3. Dosage de l'hydroxyproline**

Sous l'effet d'une collagénase, le collagène utérin est dégradé dans le sang en deux acides aminés : la glycine et l'hydroxyproline. Le dosage de cette dernière peut être effectué suite à un prélèvement de sang. Son taux sanguin augmente pendant la première semaine du post-partum. En cas de retard du processus d'involution utérine, le catabolisme du collagène utérin est ralenti et le taux d'hydroxyproline reste faible (Badinand 1981). Le dosage de l'hydroxyproline constitue un bon indicateur de la qualité anatomique et histologique de l'involution utérine. Par contre, il ne permet en aucune mesure, d'attester de la présence d'une infection utérine. Cependant, le retard d'involution utérine étant un facteur favorisant l'apparition des métrites, ce test y trouve tout son intérêt. Le dosage de la concentration sanguine en hydroxyproline est un bon critère de suivi de l'involution utérine, mais il n'est malheureusement plus réalisé actuellement (Deguillaume 2007).

### **III. Notion d'inflammation génitale**

Jusqu'à maintenant, tout ce qui a été dit concernait l'endométrite, c'est-à-dire l'inflammation de l'utérus. Or depuis peu, l'existence de cervicite, inflammation du col de l'utérus, a été démontrée.

#### **III.1. Notion de cervicite**

Peu d'études ont cherché à caractériser chez les bovins, la prévalence ou l'impact d'une inflammation endocervicale sur la reproduction. Les premiers travaux prenaient en compte les cervicites cliniques, avec une prévalence de 15% dans l'étude de Dobler (cité par Gloor 1967). Dans des cas d'échec à l'insémination, Knüsel (cité par Gloor), a observé 126 cervicites sur 1000 cas et Gloor a comptabilisé 42 cas de cervicite clinique sur 199 cas d'infertilité. La cervicite était définie dans son étude lors de l'examen au speculum par un œdème de l'orifice postérieur du col, associé à une congestion de la muqueuse, un élargissement et une induration du col, ainsi que la présence de sécrétions purulentes dans le vagin (Deguillaume 2010). L'examen histologique de l'endocol était également utilisé pour caractériser les cervicites. Deguillaume *et al.* (2012) furent les premiers à utiliser l'examen cytologique pour caractériser l'inflammation cervicale et son impact sur la reproduction. Cette étude a prouvé que l'inflammation du col n'était pas systématiquement associée à une inflammation endométriale. La notion de cervicite était alors lancée, et son impact sur les performances de reproduction méritait alors d'être étudié.

#### **III.2. Impact de la cervicite sur les performances de reproduction**

L'étude de Deguillaume *et al.* (2012) a démontré, dans l'intervalle de 21 à 35 JPP, que l'inflammation endocervicale, au seuil de 5% de GNN (granulocytes neutrophiles), était aussi délétère sur les performances de reproduction que l'inflammation utérine au seuil de 6% GNN. En effet, sur le critère des taux de vaches non gestantes en fonctions des JPP, les profils sont similaires dans les 2 cas suivants : vaches avec endométrite cytologique mais pas de cervicite et vaches avec cervicite cytologique mais pas d'endométrite.

De plus, le taux de réussite à l'insémination était significativement associé à la proportion de neutrophiles sur le frottis endocervical réalisé 7 jours auparavant : le taux de réussite à l'insémination était de seulement 15% (5/33) chez les vaches  $\geq 2\%$  GNN, contre 55% (32/58) pour les vaches  $< 2\%$  GNN.

Bien que totalement négligé dans la littérature, l'impact de l'inflammation endocervicale nécessite d'être pris en considération en raison de sa forte prévalence (plus de 40% des vaches avant 35 JPP) et de son effet marqué sur la fertilité (Deguillaume *et al.* 2012).

#### **III.3. Lien entre inflammation cervicale et inflammation utérine**

Nous savons désormais qu'à la fois l'inflammation utérine et l'inflammation (endo)cervicale ont des effets délétères sur les performances de reproduction des vaches. La

question d'un lien entre l'inflammation de ces deux compartiments apparaît alors évidente. D'autant plus quand on connaît les difficultés parfois rencontrées pour cathétériser le col chez la vache, notamment en période hors-œstrus.

Daragon (2011) a voulu tenter de relier l'état inflammatoire de ces deux compartiments pour pouvoir, le cas échéant, se fier au frottis cervical (plus facile d'accès) pour diagnostiquer les endométrites. Une première partie de l'étude est faite ex vivo, sur 101 utérus d'abattoir : les résultats cytologiques montrent une concordance médiocre entre le corps utérin et le 2ème anneau du col (coefficient de concordance de Lin : 0,61). La deuxième partie de l'étude, in vivo cette fois, consistait à comparer les résultats des prélèvements cytologiques réalisés au niveau du col et de l'utérus pour chacune des 846 vaches Prim'Holstein prélevées. Le coefficient de corrélation kappa était  $\kappa = 0,42$ , et le test de concordance de Lin était de  $\rho = 0,38$ . La corrélation entre inflammation utérine et cervicale n'est donc pas bonne. On peut donc en déduire que l'inflammation n'est pas homogène dans le tractus génital bovin femelle, et notamment que l'inflammation endocervicale ne reflète pas l'inflammation endométriale à un moment donné.

Le col ne doit donc pas être considéré uniquement comme une barrière physique entre le vagin et l'utérus, mais comme un organe à part entière (Deguillaume 2010). Ceci permet alors de définir la notion d'inflammation génitale, qui regroupe à la fois l'inflammation utérine (métrite ou endométrite) et l'inflammation cervicale (cervicite). C'est bien l'inflammation génitale (inflammation de l'utérus et/ou du col), et non l'inflammation endométriale seule, qui a un effet sur la fertilité ultérieure.

#### **III.4. Expression clinique de l'inflammation génitale**

Dans son étude, Deguillaume (2010) avait pour objectif de déterminer l'expression clinique d'une inflammation génitale cytologique. Les inflammations utérine et cervicale étaient d'abord traitées séparément puis regroupées sous le terme d'inflammation génitale. Pour cela, des critères diagnostiques étaient recherchés, seuls ou combinés, pour identifier la majorité des cas d'inflammation, sans pour autant générer un grand nombre d'animaux faux-positifs. Les critères testés étaient en palpation transrectale : un diamètre cervical supérieur à 7,5 cm, un diamètre d'au moins une des cornes utérines (à sa base) supérieur à 4 cm de diamètre, une consistance anormale des cornes (ferme, dure ou pâteuse). A l'échographie transrectale, ont été évaluées les valeurs diagnostiques des images d'accumulation de liquide clair (images en ligne ou en étoile) et pour l'examen vaginal, le recueil d'un mucus vaginal clair contenant des flocons de pus ou des sécrétions mucopurulentes ou purulentes à plus de 50%.

Les valeurs diagnostiques des critères utilisés seuls ou en combinaison, par rapport aux résultats des examens cytologiques, sont présentées dans le tableau 2. Les critères issus d'une PTR étaient de faible valeur diagnostique. Moins de la moitié des vaches présentant une inflammation génitale avaient un utérus de consistance anormale (50%) ou une augmentation du diamètre d'une corne (24%) ou du col (32%). L'utilisation de l'échographie utérine ou l'observation des sécrétions vaginales améliorait le pourcentage de cas d'inflammation diagnostiqués : on identifiait chez 62% des vaches atteintes d'inflammation génitale du

liquide à l'échographie et plus des deux tiers des animaux inflammés présentaient du pus, en plus ou moins grande proportion, dans leurs sécrétions vaginales. Cependant, ces valeurs relativement élevées de sensibilité s'accompagnaient de faibles valeurs de VPP (valeur prédictive positive). La combinaison de critères diagnostiques améliorerait l'identification des cas d'inflammation (valeurs de sensibilité), au détriment des VPP (tableau 2).

Au final, l'examen du mucus vaginal avec observation de sécrétions mucopurulentes ou purulentes était le critère assorti des meilleures valeurs diagnostiques (Se = 56%, Sp = 88%, VPP = 85% et VPN (valeur prédictive négative) = 63%, tableau 2). Aucune combinaison de critères n'atteignait de meilleures valeurs diagnostiques que celles de l'examen vaginal utilisé seul. La multiplication de critères ne permettait pas l'amélioration du diagnostic de l'inflammation cytologique.

Critères diagnostiques* (simples ou combinés)	Inflammation endométriale				Inflammation endocervicale				Inflammation génitale			
	Se	Sp	VPP	VPN	Se	Sp	VPP	VPN	Se	Sp	VPP	VPN
Diamètre du col $\geq$ 7,5 cm	36	89	70	64	37	89	70	67	32	91	80	53
Diamètre d'au moins une corne utérine $\geq$ 4 cm	25	85	56	60	21	82	44	60	24	86	67	49
Consistance anormale de l'utérus (ferme, dure ou pâteuse)	43	47	38	52	58	58	49	67	50	54	56	48
Liquide claire détecté à l'échographie (image de ligne ou de lumière)	69	42	47	64	64	39	42	61	62	37	53	45
Sécrétions vaginales [3] ou [4]	60	83	73	73	61	82	70	75	56	88	85	63
Sécrétions vaginales [2], [3] ou [4]	80	53	56	78	84	55	56	83	80	61	70	72
Diam corne ut $\geq$ 4 cm ou diam col $\geq$ 7,5 cm	45	76	59	65	45	75	55	66	44	79	71	55
Diam col $\geq$ 7,5 cm ou liquide à l'échographie	74	36	47	64	75	37	45	67	70	34	55	50

Tableau 2 : Valeurs diagnostiques de différents critères cliniques, utilisés seuls ou en combinaison, dans le diagnostic d'une inflammation endométriale (plus de 6% de neutrophiles), endocervicale (plus de 5% de neutrophiles) ou génitale pathologiques (plus de 6% de neutrophiles sur un frottis endométrial et/ou plus de 5% de neutrophiles sur un frottis endocervical). (Source : Deguillaume, 2010).

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; Diam : diamètre ; Echo : échographie  
Les notes des sécrétions vaginales reprennent la notation proposée par Williams *et al.* (2005).

### Bilan et objectifs de cette étude

Comme nous l'avons vu, la santé de l'appareil génital a un rôle capital dans l'efficacité de la reproduction bovine. L'inflammation génitale en post-partum a un impact sur la reprise de cyclicité, la fertilité et la mise en place d'une nouvelle gestation dans un délai optimal au niveau biologique et économique. Or cette inflammation est encore largement sous diagnostiquée, notamment en raison de la présence de formes subcliniques. Il existe pourtant de nombreuses méthodes de caractérisation de l'état inflammatoire génital, mais aucune ne donne pleinement satisfaction. Certaines ne sont pas assez précises et objectives (palpation transrectale, échographie), d'autres pas assez spécifiques (dosages sanguin, sécrétions vaginales), d'autres difficilement réalisables en pratique (cytologie utérine) ou enfin réservées aux situations expérimentales (histologie utérine, bactériologie).

L'objectif de cette étude était de tenter de trouver des méthodes fiables afin de détecter au mieux les inflammations génitales, à partir de prélèvements vaginaux (et donc facilement réalisable en pratique), avec un résultat le plus rapide possible et un coût raisonnable.

Notre travail a reposé sur la mise en œuvre de l'examen cytologique à trois endroits de l'appareil génital (utérus, col, vagin), avec comme valeurs de référence celles obtenues grâce à la cytologie utérine ou cervicale. Après avoir décrit les matériels et méthodes utilisés, nous avons cherché des concordances statistiques entre les valeurs obtenues par la cytologie endométriale (la référence) ou cervicale et les taux de neutrophiles obtenus par les prélèvements vaginaux.

Nous nous sommes ensuite intéressés à d'autres moyens diagnostiques, a priori d'utilisation plus simple et plus rapide que la cytologie, comme l'emploi de bandelettes urinaires ou la mesure de densité optique sur le produit de lavage vaginal et nous avons voulu savoir s'ils pouvaient nous servir d'indicateurs fiables dans la recherche d'inflammation génitale.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **I. Matériels et méthodes**

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

#### **I.1.1. Elevages**

Les vaches ont été recrutées dans deux élevages bovins laitiers de la région Midi-Pyrénées, élevages suivis régulièrement par l'Unité de Reproduction de l'ENVT :

- EARL EYCHENNE, Chemin des Boupax, 31220 MARTRES TOLOSANE : environ 115 Prim'Holstein en lactation conduites exclusivement en IA. Les vaches en lactation sont conduites dans un même bâtiment avec 126 logettes, une salle de traite de 13 places. Les vaches mettent bas dans un box de vêlage. La production laitière moyenne est de 9500 kg/vache/an.
- GAEC CABROL Michel, Crozes, 81580 CAMBUNET SUR LE SOR : environ 90 Prim'Holstein en lactation conduites exclusivement en IA. Les vaches en lactation sont conduites dans un même bâtiment avec 90 logettes, 2 robots de traite.

#### **I.1.2. Critères d'inclusion**

Les vaches étaient toutes de race Prim'Holstein, prélevées entre 21 et 35 jours post-partum (JPP). La liste des vaches à prélever était préparée à l'avance grâce au site internet [www.selso.net](http://www.selso.net) et au logiciel Vetelevage® (SNGTV, Paris, France).

Soixante-trois vaches ont ainsi été recrutées entre octobre 2012 et mai 2013 à raison de 2 à 5 vaches prélevées lors de chaque demi-journée de prélèvement. Chez EARL EYCHENNE, les vaches étaient prélevées le matin à la sortie de la salle de traite pour des raisons pratiques alors que chez GAEC CABROL, elles étaient prélevées à n'importe quel moment de la journée compte tenu qu'il n'y avait pas d'horaire de traite fixe (2 robots).

A ces 63 vaches, sont venues se rajouter 17 vaches, prélevées dans les mêmes conditions, de la même manière, chez les mêmes éleveurs, au cours de l'année scolaire précédente, dans le cadre de la thèse vétérinaire de Arocena et Gascue (2012). Ceci, afin d'augmenter la puissance statistique de notre étude.

### **I.2. Protocole expérimental**

Pour chacune des vaches recrutées, nous avons réalisé un lavage vaginal, trois prélèvements cytologiques (vaginal, cervical et utérin), une prise de sang, et une note d'état corporel (NEC) était attribuée. Les vaches à prélever sont attachées au cornadis. L'état corporel est noté sur une échelle de 1 à 5 (annexe 1).

Un opérateur attache la queue de la vache à un collier placé autour du cou de la vache, pendant que l'autre opérateur prépare le matériel. Ce même opérateur réalise le nettoyage de la région périnéale, vulvaire et la commissure inférieure de la vulve, toujours de la même manière quelque soit l'opérateur. Après un premier nettoyage à l'aide de papier absorbant sec, un deuxième passage est alors réalisé avec du savon antiseptique (Vétédine® savon, Vétoquinol, Lure, France), puis la zone est séchée au moyen de papier absorbant. Enfin, une solution antiseptique diluée à 50% est appliquée sur la zone (Vétédine® solution, Vétoquinol).

Le deuxième opérateur réalise alors un frottis vaginal au niveau du fornix dorsal du vagin. Un lavage vaginal est ensuite réalisé, permettant la collecte du liquide vaginal. Ce liquide est alors versé par le premier opérateur dans un pot de prélèvement. Une bandelette urinaire est plongée 2 minutes dans le liquide vaginal. Passées les 2 minutes, le pot identifié contenant le liquide vaginal est fermé à l'aide du bouchon et rangé dans une boîte. La mesure de la densité optique sera effectuée au retour au laboratoire de l'ENVT. Pendant ce temps, le second opérateur réalise un frottis cervical puis un frottis endométrial, que le premier opérateur étale sur des lames identifiées.

Pour chaque vache, les opérateurs intervertissent les rôles : celui réalisant le nettoyage de la vulve et de la région périnéale ainsi que la collecte des données, réalise les prélèvements (lavage vaginal, frottis) à la vache suivante, et vice versa.

### **I.3. Méthodes**

#### **I.3.1. Lavage vaginal**

L'opérateur avec une main gantée non lubrifiée (seulement mouillée pour faciliter l'introduction dans le vagin) introduit le dispositif au fond du vagin (près de l'entrée du col). Le dispositif se compose d'une tubulure en plastique mesurant 40 cm de long et 5 mm de diamètre, non abrasif monté sur une seringue de 50 ml (Omnifix® 50ml, B. Braun Melsungen, Allemagne) contenant 20 ml d'une solution de chlorure de sodium à 0,9% tiède et 30 ml d'air. Le second opérateur vide le contenu de la seringue (20 ml de liquide et 30 ml d'air) dans la tubulure. Le premier, ayant toujours la main au fond du vagin, par des mouvements circulaires, agite le liquide sur le plancher du vagin environ 10 secondes afin de récupérer le maximum de mucus vaginal et d'homogénéiser le contenu. Le second opérateur aspire alors ce contenu, grâce à la seringue toujours montée sur la tubulure et l'introduit dans un pot de prélèvement identifié.

A la fin du prélèvement, la tubulure est plongée dans une solution contenant de la chlorhexidine diluée (HIBITANE® solution, MSD, Beaucauze, France) puis rincée et séchée pour le prélèvement suivant. Une seringue stérile neuve est utilisée pour chaque vache.

Une note de 1 à 4 est alors attribuée à chaque liquide vaginal recueilli, selon son aspect, la proportion et le volume de pus, à l'aide de la grille de classification du mucus vaginal proposée par Williams *et al.* (2005) (figure 4).

### I.3.2. Bandelette urinaire

Une bandelette urinaire MULTISTIX® (Bayer, Puteaux, France) est plongée immédiatement dans le liquide vaginal recueilli. La durée de contact était fixée à 2 minutes et mesurée à l'aide d'un chronomètre. Trois paramètres sont alors observés (taux de leucocytes, taux de protéines et pH) et une note attribuée selon les modalités suivantes :

- taux de protéines : 0 = « negative » ; 1 = « + » ; 2 = « ++ » ; 3 = « +++ »
- taux de leucocytes : 0 = « negative » ; 1 = « + » ; 2 = « ++ » ; 3 = « +++ »
- pH : note de 6 à 9 avec un pas de 0,5 correspondant à la valeur du pH.

### I.3.3. Prélèvements cytologiques

Les frottis vaginaux, cervicaux et endométriaux ont été réalisés à l'aide d'une cytobrosse stérile (Cytobrush® Plus GT, Medscand® medical, redistribuée par Alcyon, Paris, France) modifiée pour grands animaux. La cytobrosse est coupée à environ 8 cm de la longueur de sa tige plastique et est insérée dans un pistolet d'insémination artificielle (IA) en acier inoxydable (IMV Technologies, L'Aigle, France) de diamètre interne de 3 mm. La cytobrosse est fixée à l'extrémité du pistolet, à l'aide d'une bande d'Adheroplaste® Fibranne (BSN Medical, Vibraye, France) (figure 5).

Le montage est ensuite placé dans une gaine pour insémination artificielle (IMV Technologies) en plastique rigide afin de protéger la cytobrosse d'une contamination en dehors de la zone de prélèvement. Le tout est ensuite enfilé dans une chemise sanitaire souple (IMV Technologies). Celle-ci sert à protéger le montage des produits vaginaux pour les prélèvements cervical et utérin, en étant déchirée au niveau de l'ostium externe du col.

Un seul opérateur réalise tous les prélèvements pour la même vache, l'autre réalise les frottis immédiatement après le prélèvement.



Figure 5 : Montage de la cytobrosse et du pistolet d'IA pour les prélèvements vaginaux, cervicaux et utérins. (Source : Deguillaume 2010).



- **Prélèvement cytologique vaginal**

Le dispositif décrit ci-dessus est introduit dans le vagin, le plus dorso-crânialement possible, au niveau du fornix dorsal. Ceci est réalisé sans que l'opérateur n'introduise sa main afin d'éviter de modifier la composition cytologique du prélèvement et la composition du liquide vaginal recueilli dans l'étape suivante. La chemise sanitaire est alors déchirée et le pistolet d'insémination poussé hors de la gaine plastique afin de découvrir la cytobrosse dans le fornix dorsal du vagin. Par un mouvement de rotation, la cytobrosse est pressée contre la paroi du vagin. Elle est ensuite replacée à l'intérieur de sa gaine sanitaire plastique avant d'être extraite du vagin de l'animal. Le lavage vaginal est réalisé dans un deuxième temps.

- **Prélèvement cytologique cervical**

Un nouveau pistolet est introduit dans le vagin jusqu'à l'ostium externe du col de l'utérus. La chemise sanitaire est alors déchirée. Une main par voie transrectale assure le guidage du pistolet, par mobilisation du col de l'utérus pendant que l'autre main tient et oriente le pistolet par voie vaginale. L'opérateur continue de faire avancer le dispositif jusqu'à avoir passé 2 anneaux du col. Le pistolet d'insémination est alors poussé hors de la gaine plastique afin de découvrir la cytobrosse à l'intérieur du col. La cytobrosse est alors appliquée contre la paroi du col par des mouvements rotatifs avant d'être rentrée dans sa gaine sanitaire puis extraite délicatement de la vache.

- **Prélèvement cytologique utérin**

De la même manière que pour le prélèvement cervical, un troisième pistolet est introduit dans le vagin, la chemise sanitaire déchirée à l'entrée du col, le montage guidé par voie transrectale jusqu'à avoir entièrement franchi le col. Quelques centimètres après l'ostium interne du col, la cytobrosse est découverte afin d'effectuer le prélèvement contre la paroi de l'utérus. Le retrait s'effectue délicatement, sous couvert de la gaine sanitaire.

A la fin des prélèvements, les pistolets d'insémination sont plongés dans une solution contenant de la chlorhexidine diluée (HIBITANE solution) puis rincés et séchés pour la série de prélèvements suivante.

### **I.3.4. Réalisation, coloration et lecture**

Immédiatement après la collecte des cytobrosses par le premier opérateur, le second réalise les frottis en roulant la cytobrosse sur une lame en verre pour microscope. La lame est alors identifiée par un code désignant la vache, l'élevage et le lieu de prélèvement (vagin, col ou utérus). La lame est ensuite stockée dans un porte lame. Aucune fixation de la lame n'est

appliquée. Selon l'imbibition de la brosse et la présence de sang en quantité plus ou moins importante, une ou deux lames étaient réalisées par cytobrosse.

Toutes les lames ont été colorées par un automate de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (modèle Aerospray, marque Wescor, Kitvia, Labarthe Inard, France). Elles ont été colorées par la méthode de May-Grünwald-Giemsa.

La lecture des frottis est effectuée par microscopie (BX 41 microscope, Olympus, Rungis, France). Si plusieurs frottis avaient été réalisés avec une même cytobrosse, tous étaient rapidement observés et selon la quantité de sang, le nombre de cellules et leur état, seul le plus lisible était utilisé.

La méthode de lecture comprend, tout d'abord, une observation de la lame au grossissement x100 pour évaluer son homogénéité et rechercher une zone de lecture correcte. La lecture détaillée s'effectue au grossissement x400 ou x1000 sous immersion (figure 6). La lame est lue en effectuant des créneaux classiques (comme lors de la lecture d'un frottis sanguin), s'étirant idéalement d'un bord à l'autre de la lame. Cent cellules sont alors comptées par frottis. Le but de la lecture est de déterminer la proportion de granulocytes neutrophiles (GNN) par rapport aux autres cellules : cellules épithéliales (quel que soit son type : agranulaire, granuleuse ou squameuse) et leucocytes autres que neutrophiles. La lecture donne donc pour chaque lame un pourcentage de neutrophiles par rapport aux cent cellules comptées par frottis.

Pour être prise en compte, une cellule devait avoir un contour nucléaire visible et intègre, et un contour cytoplasmique visible et intègre. En cas d'amas cellulaire tridimensionnel, il est admis de ne compter que dix cellules au maximum, toutes bien visibles et identifiables. Ne sont pas comptés : tout débris végétal ou animal, noyau seul, cellule à morphologie altérée, cellule anucléée (hématie ou squame), cellule fusiforme isolée ou en paquets évoquant des fibroblastes. Pour des raisons de fiabilité et de commodité, le comptage était effectué grâce à deux compteurs cellulaires, un pour chaque catégorie de cellule.

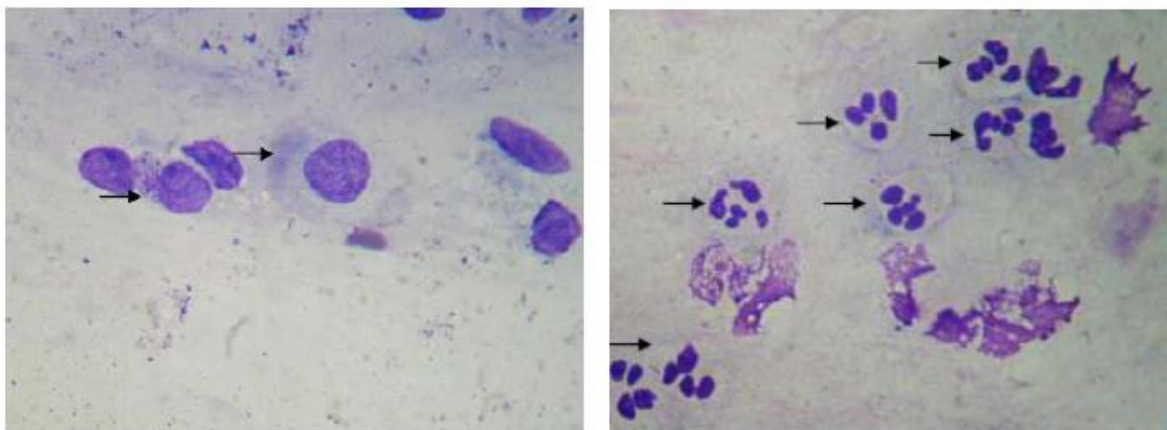


Figure 6 : Photos de frottis utérins de vache obtenus par cytobrosse (x1000).

Les flèches indiquent :

- sur la photo de gauche : les cellules épithéliales
- sur la photo de droite : les granulocytes neutrophiles.

### **I.3.5. Mesure de la densité optique**

Chaque échantillon de mucus vaginal prélevé par lavage vaginal est passé au spectrophotomètre (IMV) pour mesurer sa densité optique. La spectrophotométrie est largement utilisée pour mesurer la concentration en protéines ou en cellules dans un échantillon liquide (Glasel 1995 ; Metris *et al.* 2006). Ici, la densité optique permet ainsi d'évaluer la quantité de cellules présentes dans le mucus vaginal (cellules notamment inflammatoires). Le spectrophotomètre est étalonné préalablement à chaque série de mesures à l'aide d'une solution d'eau distillée. Les mesures se font à la fin de chaque journée de prélèvements, après retour au laboratoire.

Afin de vérifier la répétabilité des mesures, les échantillons ont été lus 3 fois. Chaque résultat est noté au fur et à mesure. Le résultat retenu pour un mucus vaginal donné est la moyenne des 3 mesures réalisées. Nous avons calculé le coefficient de variation intra-assay pour les 3 mesures (n=93) qui est égal à 9,77 (moyenne des coefficients de variation < 10), montrant ainsi la répétabilité des mesures de densité optique. Les échantillons contenant des écoulements purulents sont la plupart du temps illisibles, le spectrophotomètre donnant une valeur de saturation, et leurs résultats sont exclus de l'interprétation.

### **I.4. Collecte, codage et saisie des données**

Pour chacune des vaches prélevées, toutes les étapes de la manipulation ont été effectuées par un même opérateur. Le recueil des résultats est effectué au fur et à mesure par le second opérateur, qui les consigne sur une fiche présentée en annexe 2, fiche qui liste tous les prélèvements à effectuer, afin de ne pas en oublier. Chaque vache recevait un « code » où une lettre indiquait l'élevage d'origine et un chiffre le numéro qui lui était attribué. C'est le deuxième opérateur qui réalise les étalements sur lame et la lecture de la bandelette urinaire. Après chaque vache prélevée, les opérateurs intervertissent leur rôle.

Les données collectées sur place sont ensuite saisies, au fur et à mesure des visites, sur un tableau informatique (Excel®, Microsoft Corporation, version 2007). Le tableau regroupant les données reprend le format de base des feuilles en version papier pour minimiser le risque d'erreur.

La lecture des frottis cytologiques étant différée, le tableau a été complété au fur et à mesure des lectures. Les données concernant les performances de reproduction (date de vêlage, parité, production) étaient recueillies et saisies au préalable à partir des comptes rendus de visite de l'Unité de Reproduction de l'ENVY et du logiciel VETELEVAGE®.

### **I.5. Analyse statistique**

#### **I.5.1. Outils statistiques**

Les données de cette étude ont été analysées grâce aux logiciels EXCEL® (Microsoft, 2012) et SAS® (SAS Institute, 1976).

### **I.5.2. Tests statistiques**

Dans un premier temps, les résultats cytologiques (données quantitatives) ont été comparés entre utérus et col, utérus et vagin, et col et vagin et analysés par le calcul du coefficient de corrélation de Pearson.

Le test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon, test non paramétrique, a été utilisé pour comparer les moyennes de deux échantillons grâce au logiciel SAS®. Deux valeurs ont été considérées comme différentes si p était inférieur à 5%.

### **I.5.3. Courbes ROC**

Nous avons cherché à savoir s'il existait des tests simples à réaliser qui permettent de détecter les vaches à endométrite/cervicite, ou plus généralement les vaches atteintes d'inflammation génitale (utérus et/ou col inflammé). Pour cela, nous avons comparé les performances diagnostiques de ces différents tests pour la détection d'endométrite et pour la détection d'inflammation génitale. Pour apprécier ces performances diagnostiques, nous avons réalisé des courbes ROC (Receiver Operating Characteristic) pour chaque test.

- **Test de référence pour caractériser le statut inflammatoire des vaches**

Pour pouvoir évaluer les performances d'un test diagnostique, il faut avant tout disposer d'un test de référence pour caractériser le statut des animaux. Le standard choisi est la cytologie avec les « codes » suivant :

- « Endométrite positive » : toute vache dont le frottis utérin présente au moins 6% de neutrophiles (statut utérin = 1).
- « Endométrite négative » : toute vache dont le frottis utérin présente moins de 6% de neutrophiles (statut utérin = 0).
- « Cervicite positive » : toute vache dont le frottis cervical présente au moins 5% de neutrophiles (statut col = 1).
- « Cervicite négative » : toute vache dont le frottis cervical présente moins de 5% de neutrophiles (statut col = 0).
- « Inflammation génitale positive » : toute vache étant endométrite positive et/ou cervicite positive (statut génital = 1).
- « Inflammation génitale négative » : toute vache n'étant ni endométrite positive ni cervicite positive (statut génital = 0).

- **Réalisation d'une courbe ROC**

La courbe ROC est une représentation graphique de la relation existant entre la sensibilité et la spécificité d'un test, calculée pour toutes les valeurs seuils possibles. Elle

permet la détermination et la comparaison des performances diagnostiques de plusieurs tests à l'aide de l'indice de Youden. La courbe ROC est également utilisée pour estimer la valeur seuil optimale d'un test. L'indice de Youden est défini comme suit :

$$\text{Indice de Youden} = 100 * (\text{Sensibilité} + \text{Spécificité} - 1)$$

L'indice de Youden est compris entre 0 (la méthode de diagnostic n'est pas efficace) et 100 (la méthode est parfaite).

Pour réaliser cette courbe, pour chacun des tests, nous avons calculé pour chaque seuil, la sensibilité et la spécificité du test après avoir calculé les effectifs de vrais positifs, faux positifs, vrais négatifs et faux négatifs. Les couples  $\{1 - \text{spécificité}, \text{sensibilité}\}$  sont alors placés sur un plan orthonormé où les abscisses (x) représentent  $(1 - \text{Spécificité})$  variant de 0 à 1 et où les ordonnées (y) représentent  $(\text{Sensibilité})$ .

Dans notre étude, ces courbes ont été réalisées grâce au logiciel SAS®, après avoir classé les vaches selon leur statut (endométrite, cervicite, inflammation génitale positive ou négative).

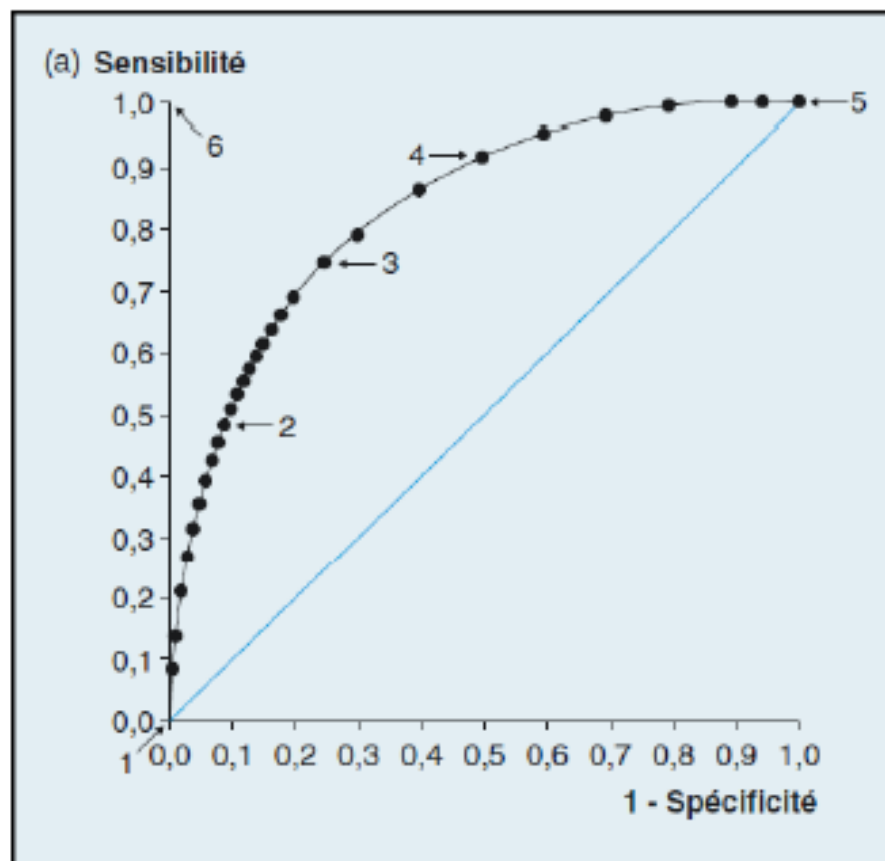


Figure 7 : Exemple de courbe ROC. (Source : Delacour, 2005).

Pour une valeur seuil élevée, tous les sujets sont classés sains (point 1, figure 7) : la résultante sur la courbe ROC est le point situé au coin inférieur gauche ( $Se = 0$  et  $Sp = 1$ ). Toute diminution du seuil entraîne une augmentation de la sensibilité et une diminution de la spécificité (points 2, 3 et 4). À l'extrême, pour une valeur seuil très basse, tous les sujets sont classés malades : la résultante est le point situé au coin supérieur droit (point 5). Dans le cas d'un test " parfait ", la sensibilité et la spécificité sont égales à 1. La résultante est le point situé à l'extrémité supérieure droite de la courbe ROC (point 6). La diagonale bleue représente un test " d'apport nul ".

- **Interprétation d'une courbe ROC**

L'exploitation d'une courbe ROC débute par une étude de son allure générale et par la détermination de l'aire sous la courbe (AUC) associée. L'aire sous la courbe permet d'évaluer l'intérêt diagnostique d'un test. On distingue les tests d'apport nul ( $AUC = 0,5$ ), peu informatifs ( $0,5 \leq AUC < 0,7$ ), moyennement informatifs ( $0,7 \leq AUC < 0,9$ ), très informatifs ( $0,9 \leq AUC < 1$ ) et parfaits ( $AUC = 1$ ).

Dans le cas d'un test parfait, la courbe ROC passe par le point de coordonnées  $\{0, 1\}$  ( $Sp = 1, Se = 1$ ), l'aire sous la courbe associée est 1. À l'inverse, si les distributions des résultats des sujets malades et des sujets sains se superposent parfaitement, la sensibilité est égale à la quantité  $(1 - \text{spécificité})$  pour toutes les valeurs du test. La courbe ROC résultante est une diagonale reliant l'extrémité inférieure gauche à l'extrémité supérieure droite du graphique. La surface sous la courbe est de 0,5 : le test est qualifié d'apport nul. On peut également comparer plusieurs tests diagnostiques en comparant leurs courbes ROC, et notamment leur aire sous la courbe ou bien l'indice de Youden.

La courbe ROC permet également de déterminer la valeur seuil optimale d'un test. Pour chacun des tests analysés dans notre étude, nous avons calculé pour chaque seuil, la proportion de vaches réellement positives au-dessus et au-dessous du seuil. La valeur seuil choisie pour un test donné est alors celle avec l'indice de Youden le plus élevé.

## II. Résultats

### II.1. Description de l'inflammation génitale

#### II.1.1. Analyse quantitative

##### II.1.1.1. Inflammation utérine

Nous avons réalisé 75 prélèvements cytologiques dans le compartiment utérin. Le taux de neutrophiles varie de 0 à 64%. 39% des vaches présentent un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 6% (29 vaches sur 75) et 39% ne présentent aucun neutrophile sur leur frottis utérin (29 vaches sur 75) (figure 8).

La médiane du taux de neutrophiles utérins est de 1% et la moyenne de  $9,1 \pm 3,3\%$  (moyenne  $\pm 1,96 \times$  erreur standard).

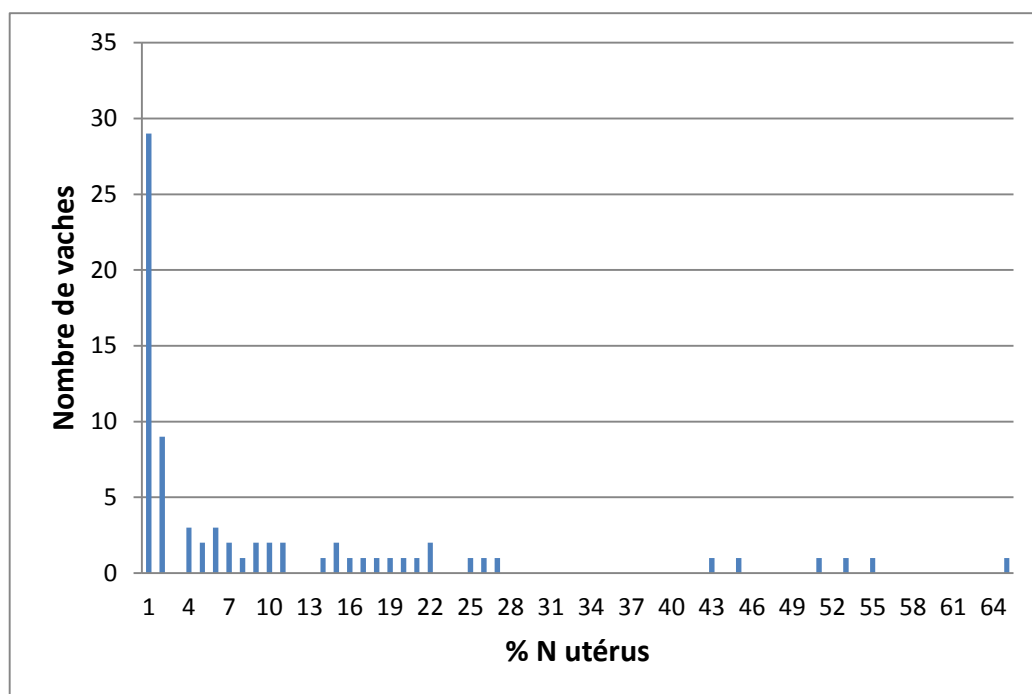


Figure 8 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles utérin (n=75).

##### II.1.1.2. Inflammation cervicale

Nous avons réalisé 77 prélèvements cytologiques dans le compartiment cervical. Le taux de neutrophiles varie de 0 à 64%. 25% des vaches présentent un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 5% (19 vaches sur 77) et 49% ne présentent aucun neutrophile sur leur frottis cervical (38 vaches sur 77) (figure 9).

La médiane du taux de neutrophiles cervical est de 1% et la moyenne de  $7,0 \pm 3,2\%$ .

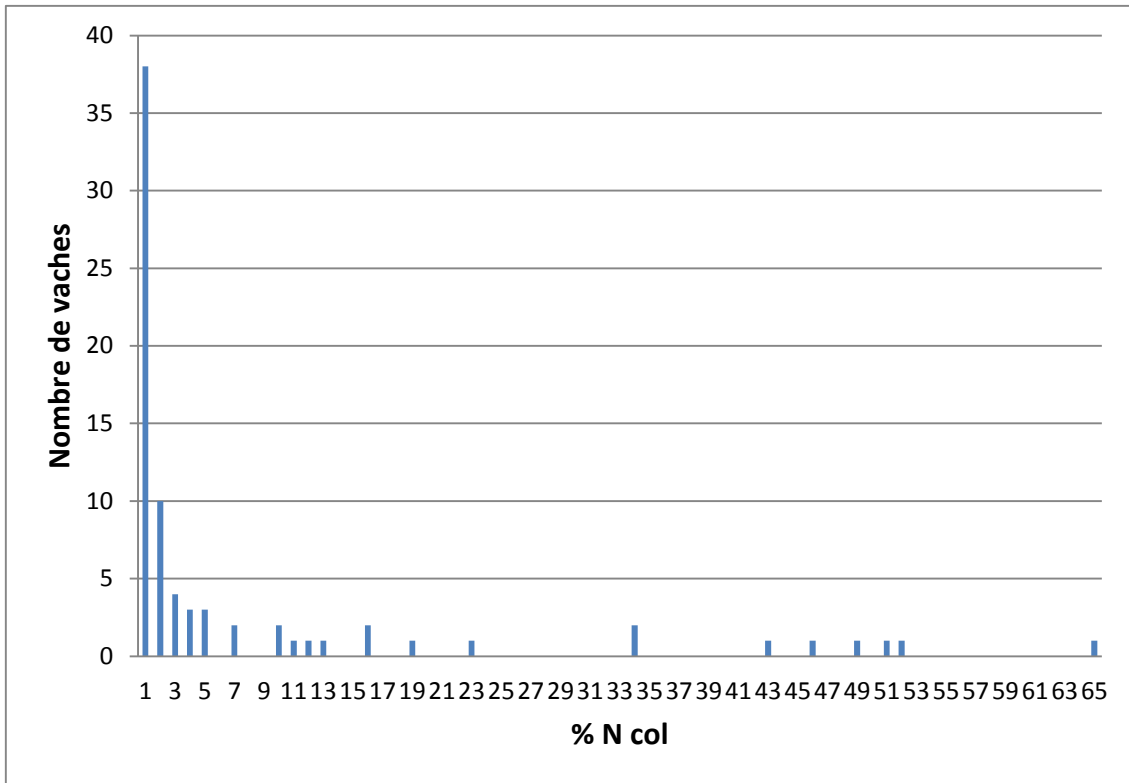


Figure 9 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles cervical (n=77).

### II.1.1.3. Inflammation vaginale

Nous avons réalisé 77 prélèvements cytologiques dans le compartiment vaginal. Le taux de neutrophiles varie de 0 à 84%. 16% des vaches ne présentent aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (12 vaches sur 77) (figure 10).

La médiane du taux de neutrophiles vaginal est de 19% et la moyenne de  $27,0 \pm 5,8\%$ .

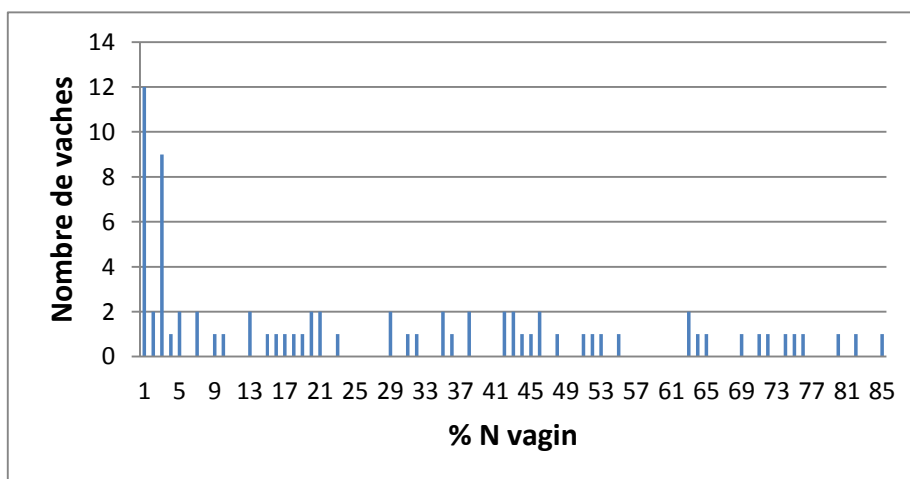


Figure 10 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles vaginal (n=77).



#### II.1.1.4. Mesure de la densité optique

Nous avons pu mesurer la densité optique de 76 prélèvements de liquide vaginal. La densité optique varie de  $2,59 \cdot 10^6$  à  $4,46 \cdot 10^9$ . Pour 21% des vaches (16 sur 76), la densité optique était illisible pour le spectrophotomètre à cause de l'opacité des écoulements purulents. Une valeur de saturation (supérieure à la plus grande valeur mesurée) a alors été arbitrairement attribuée à ces vaches ( $5,00 \cdot 10^9$ ).

En excluant ces valeurs de saturation, la moyenne de la densité optique est de  $1,86 \cdot 10^9 \pm 3,03 \cdot 10^8$  et la médiane de  $1,53 \cdot 10^9$  (figure 11).

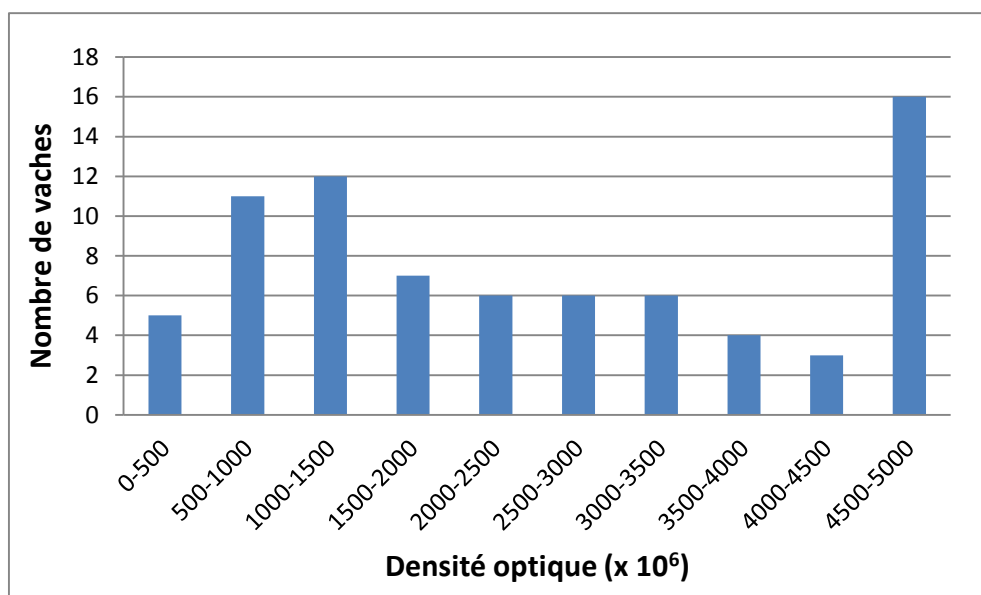


Figure 11 : Distribution de la densité optique du liquide vaginal (n=76).

#### II.1.1.5. Bandelette urinaire

Nous avons analysé 80 mucus vaginaux à l'aide de bandelettes urinaires. L'analyse concernait le taux de leucocytes, le taux de protéines ainsi que le pH du mucus vaginal.

- **Taux de leucocytes**

Sur les 80 vaches prélevées, le résultat lu sur la bandelette urinaire pouvait prendre 4 valeurs différentes selon le taux de protéines (0, 1, 2 ou 3 croix). La figure 12 présente la distribution des résultats : 28,75% des vaches étaient négatives, 12,5% à « + », 23,75% à « ++ » et 35% à « +++ ».

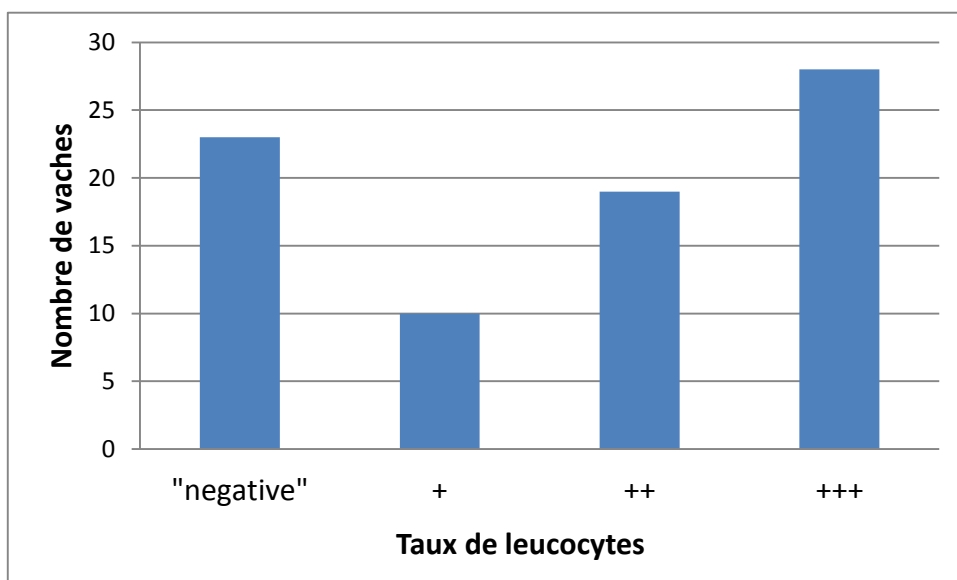


Figure 12 : Distribution des taux de leucocytes des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80).

- **Taux de protéines**

Sur les 80 vaches prélevées, le résultat lu sur la bandelette urinaire pouvait prendre 4 valeurs différentes selon le taux de protéines (0, 1, 2 ou 3 croix). La figure 13 présente la distribution des résultats : 7,5% des vaches étaient négatives, 35% à « + », 41,25% à « ++ » et 16,25% à « +++ ».

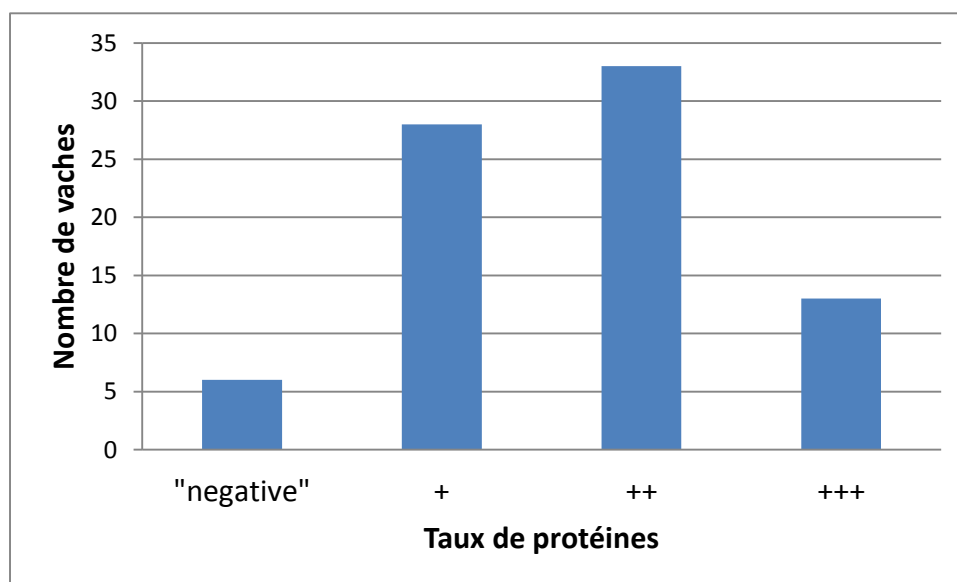


Figure 13 : Distribution des taux de protéines des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80).

- **pH**

La valeur du pH des liquides vaginaux lue sur la bandelette urinaire variait de 6 à 9 avec un pas de 0,5. La figure 14 présente la distribution des résultats.

La médiane du pH est 7,50.

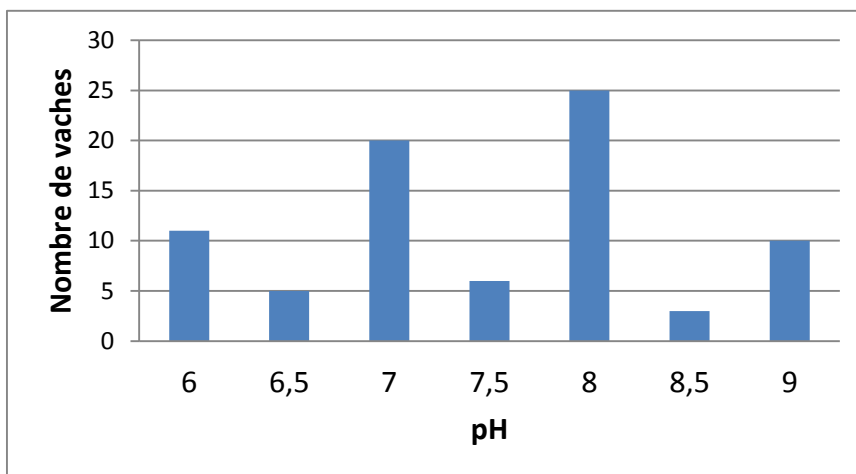


Figure 14 : Distribution du pH des liquides vaginaux, obtenus avec une bandelette urinaire (n = 80).

### II.1.1.6. Corrélation des degrés d'inflammation dans les différents compartiments génitaux

#### II.1.1.6.1. Corrélation entre inflammation utérine et cervicale

Globalement, sur l'ensemble des prélèvements réalisés, la corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et le taux de neutrophiles utérins est modérée et significative ( $R^2 = 0,4189$  ;  $p = 0,0001$ ) (figure 15).

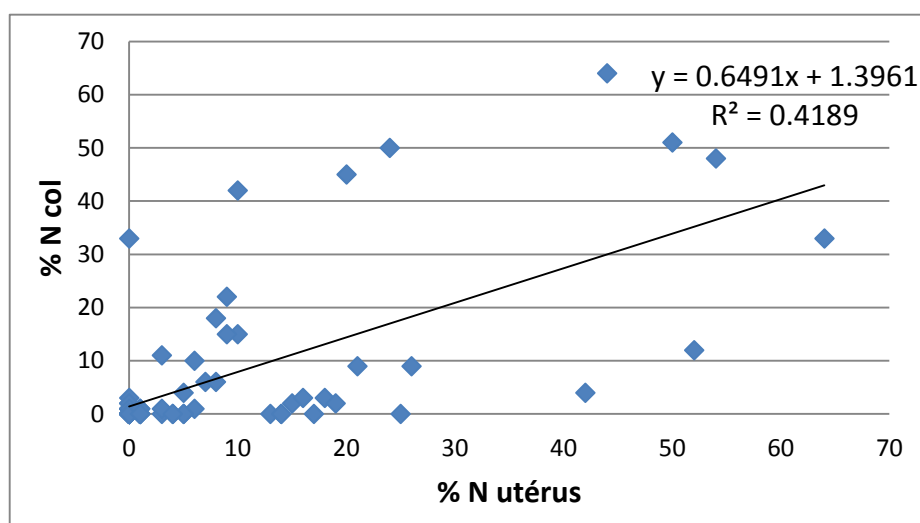


Figure 15 : Corrélation entre les taux de neutrophiles utérins et cervicaux.

### II.1.1.6.2. Corrélation entre inflammation utérine et vaginale

De même, sur l'ensemble des prélèvements réalisés, la corrélation entre le taux de neutrophiles vaginaux et le taux de neutrophiles utérins est faible, mais néanmoins significative ( $R^2 = 0,1058$  ;  $p = 0,005$ ) (figure 16).

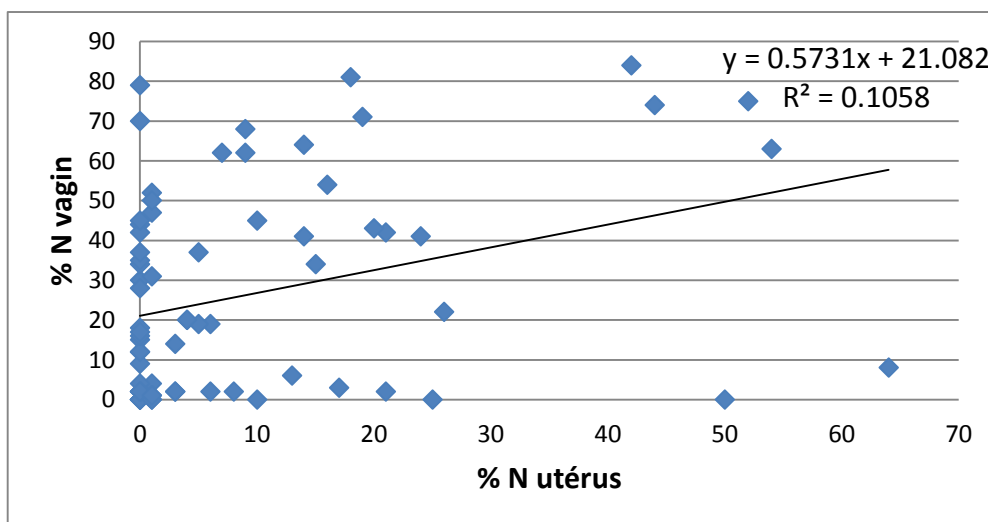


Figure 16 : Corrélation entre les taux de neutrophiles utérins et vaginaux.

### II.1.1.6.3. Corrélation entre inflammation cervicale et vaginale

De même, sur l'ensemble des prélèvements effectués, les taux de neutrophiles vaginaux et cervicaux sont très faiblement corrélés ( $R^2 = 0,0494$ ) et cette corrélation est proche du seuil de significativité de 5% ( $p = 0,0552$ ) (figure 17).

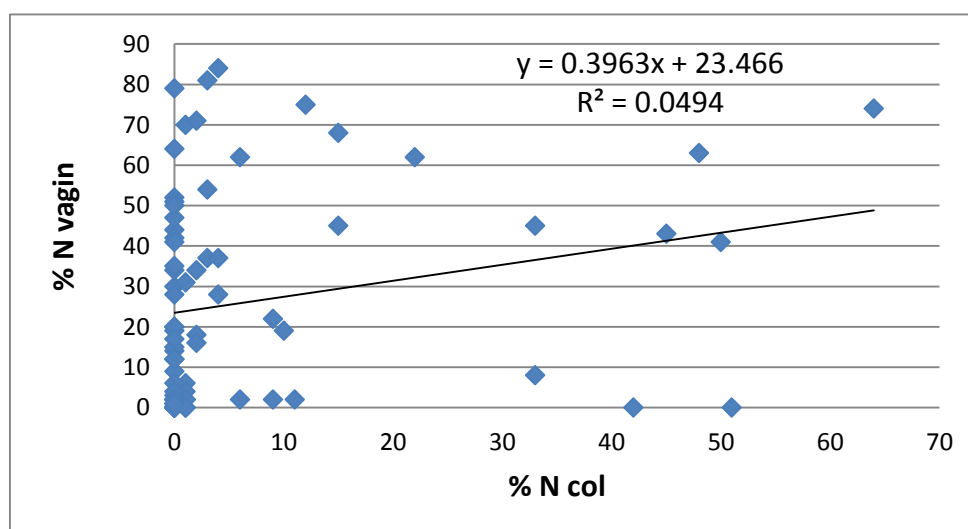


Figure 17 : Corrélation entre les taux de neutrophiles cervicaux et vaginaux.

### II.1.1.7. Corrélation entre les différents paramètres vaginaux

Comme pour l'inflammation utérine, la cytologie vaginale est considérée comme le « gold standard » des tests. L'intérêt de ce paragraphe est de voir si les autres paramètres vaginaux mesurés reflètent cette inflammation.

- Corrélation entre le taux de neutrophiles vaginaux et la densité optique

Sur l'ensemble des prélèvements réalisés, en ne considérant pas les valeurs de saturation de densité optique, les taux de neutrophiles vaginaux et la densité optique du liquide vaginal sont très faiblement corrélés ( $R^2 = 0,0101$ ) et cette corrélation n'est pas significative ( $p = 0,4530$ ) (figure 18).

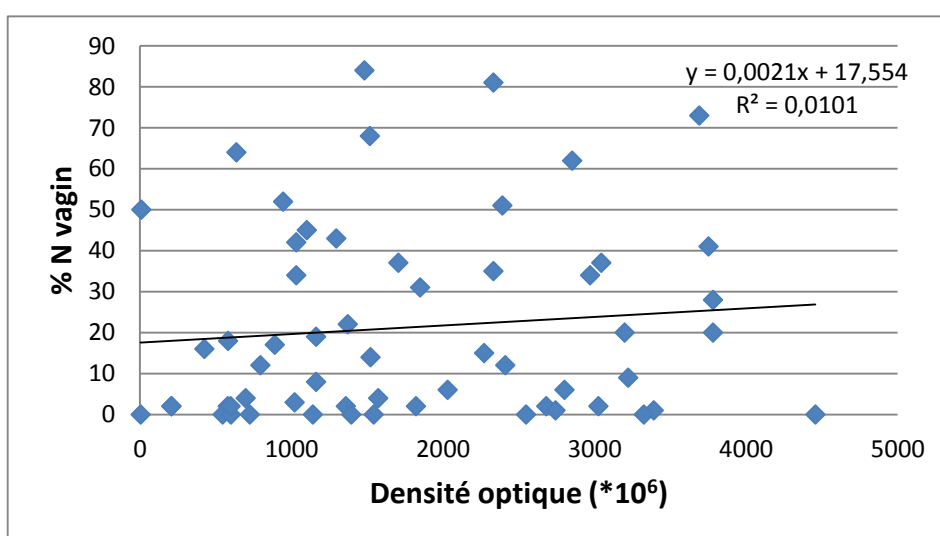


Figure 18 : Corrélation entre le taux de neutrophiles vaginaux et la densité optique.

- Corrélation entre le taux de neutrophiles vaginaux et le taux de leucocytes

Les moyennes des taux de neutrophiles vaginaux selon le taux de leucocytes du liquide vaginal sont présentées dans le tableau 3. La corrélation entre ces deux paramètres n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon :  $p = 0,0907$ ).

Tableau 3 : Moyennes des taux de neutrophiles vaginaux selon le taux de leucocytes du liquide vaginal.

Taux de leucocytes	% N vaginaux moyen
0	19,45%
+	32,00%
++	19,32%
+++	37,15%

## **II.1.2. Analyse qualitative**

Les seuils de taux de neutrophiles ayant permis de déterminer les vaches présentant une inflammation utérine (endométrite) et/ou une inflammation cervicale (cervicite) ont été choisis en fonction des données de la bibliographie (Gilbert *et al.* 2005, Galvao *et al.* 2009, Dubuc *et al.* 2010b, Deguillaume *et al.* 2012).

Le seuil de taux de neutrophiles utérin choisi pour déterminer une vache présentant une endométrite, au sens cytologique, est de 6%N. Celui pour déterminer une vache présentant une cervicite est de 5%. L'inflammation d'au moins un de ces deux secteurs définit une inflammation génitale.

### **II.1.2.1. Description des états inflammatoires des différents compartiments**

Dans notre étude, sur les 74 frottis utérins réalisés, 28 ont un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 6%, ce qui définit une prévalence de l'endométrite de 38%.

De même, sur les 77 frottis cervicaux, 19 ont un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 5%, ce qui fait une prévalence de la cervicite de 25%.

Enfin, sur les 78 vaches ayant subi soit un prélèvement utérin, soit un prélèvement cervical, 30 présentent une inflammation d'au moins un des deux secteurs. La prévalence de l'inflammation génitale est donc de 38%.

### **II.1.2.2. Association entre les états inflammatoires des différents compartiments**

#### **II.1.2.2.1. Utérus et col**

Parmi les vaches atteintes d'endométrite, 61% présentent également un frottis cervical positif (17 prélèvements sur 28). Inversement, parmi les vaches présentant une cervicite, 89% présentent également un frottis utérin positif (17 prélèvements sur 19).

Parmi les vaches non atteintes d'endométrite, 4% présentent cependant une cervicite (2 prélèvements sur 46). Inversement, parmi les vaches ne présentant pas de cervicite, 20% présentent cependant une endométrite (11 prélèvements sur 55) (tableau 4).

Au final, lorsqu'il y a inflammation d'au moins un des compartiments, une inflammation simultanée des deux compartiments est observée dans 57% des cas (17 prélèvements sur 30).

Tableau 4 : Association entre état inflammatoire de l'utérus et du col (n = 74 paires).

Statut col	Statut utérus		Total
	Sain	Inflammé	
Sain	44	11	55
	59,5%	14,9%	74,3%
Inflammé	2	17	19
	2,7%	23,0%	25,7%
Total	46	28	74
	62,2%	37,8%	100%

#### II.1.2.2.2. Relation entre inflammation utérine et taux de neutrophiles vaginaux

Le pourcentage moyen de taux de neutrophiles vaginaux chez les vaches à endométrite est de 38,1%, celui chez les vaches sans endométrite est de 19,0%. Cette différence est significative (test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon :  $p = 0,0062$ ).

Les vaches présentant une endométrite cytologique (n=28) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 84%. Parmi les vaches présentant une endométrite, 11% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (3 vaches sur 28), 57% (16 vaches sur 28) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 19).

Inversement, les vaches ne présentant pas d'endométrite (n=45) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 79%. Parmi ces vaches, 20% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (9 vaches sur 45), 18% (8 vaches sur 45) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 19).

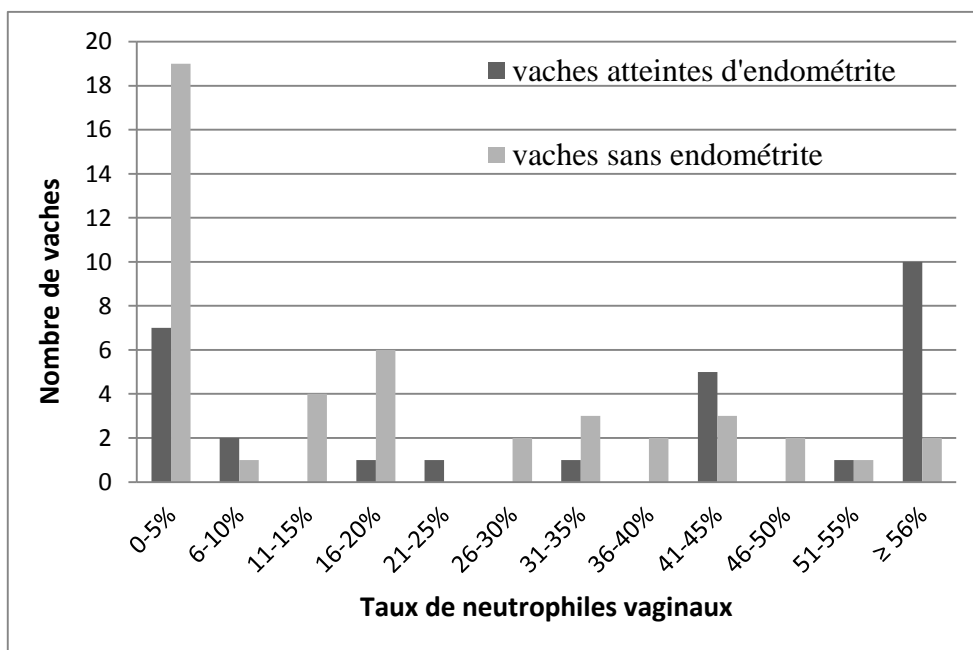


Figure 19 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence (n=28) ou non (n=45) d'une endométrite.

### II.1.2.2.3. Relation entre inflammation cervicale et taux de neutrophiles vaginaux

Le pourcentage moyen de taux de neutrophiles vaginaux chez les vaches atteintes de cervicite est de 35,2%, celui chez les vaches sans cervicite est de 23,4%. Cette différence n'est cependant pas significative (test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon :  $p = 0,1229$ ).

Les vaches présentant une cervicite cytologique ( $n=18$ ) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 75%. Parmi ces vaches, 11% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (2 vaches sur 18), 56% (10 vaches sur 18) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 20).

Inversement, les vaches ne présentant pas de cervicite ( $n=57$ ) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 84%. Parmi ces vaches, 18% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (10 vaches sur 57), 25% (14 vaches sur 57) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 20).

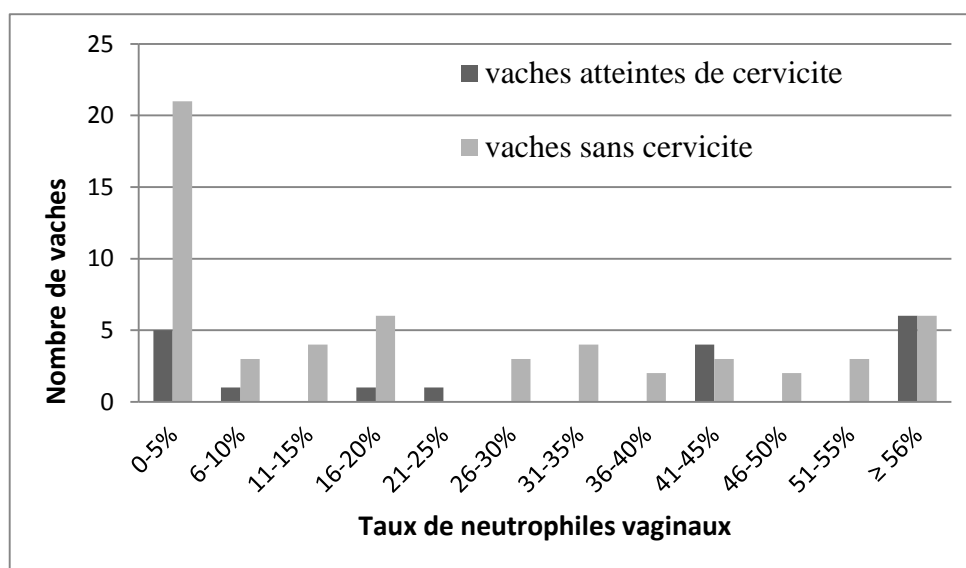


Figure 20 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence ( $n=18$ ) ou non ( $n=57$ ) d'une cervicite.

### II.1.2.2.4. Relation entre inflammation génitale et taux de neutrophiles vaginaux

Le pourcentage moyen de taux de neutrophiles vaginaux chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 37,2%, celui chez les vaches sans inflammation génitale est de 18,8%. Cette différence est significative (test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon :  $p = 0,0065$ ).



Les vaches présentant une inflammation génitale (n=30) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 84%. Parmi ces vaches, 10% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (3 vaches sur 30), 57% (17 vaches sur 30) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 21).

Inversement, les vaches sans inflammation génitale (n=43) présentent des taux de neutrophiles vaginaux variant de 0 à 79%. Parmi ces vaches, 21% n'ont aucun neutrophile sur leur frottis vaginal (9 vaches sur 43), 16% (7 vaches sur 43) présentent des frottis avec des taux de neutrophiles  $\geq 40\%$  (figure 21).

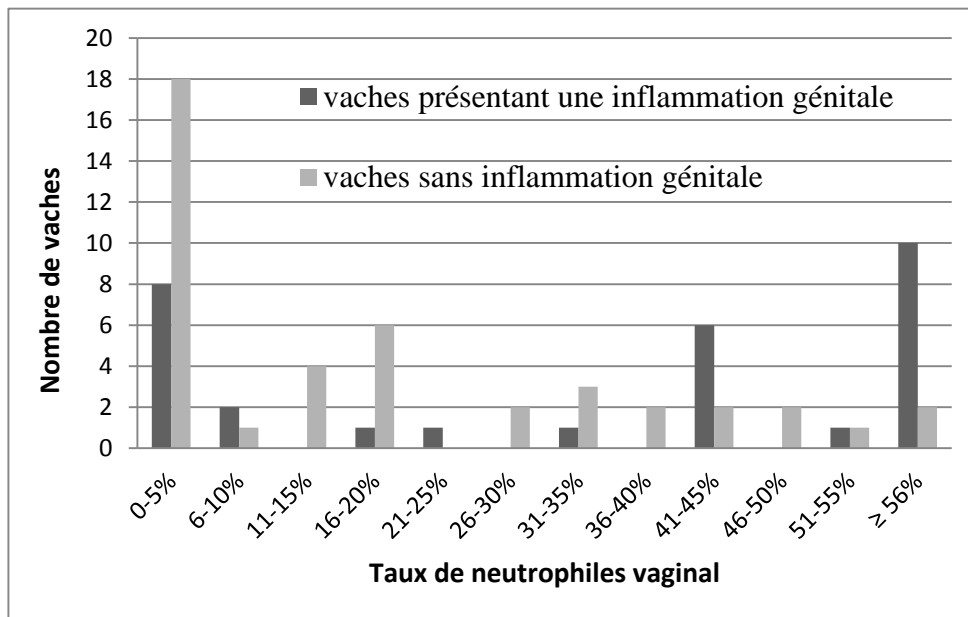


Figure 21 : Distribution des taux de neutrophiles vaginaux en fonction de la présence (n=30) ou non (n=43) d'une inflammation génitale.

### II.1.3. Discussion

#### II.1.3.1. Choix d'une technique de référence pour le diagnostic de l'inflammation utérine

Pour notre étude, il nous fallait une technique de référence afin d'évaluer l'état inflammatoire de l'appareil génital des vaches. Ainsi nous pouvions comparer les résultats obtenus avec les nouvelles techniques testées aux résultats de référence obtenus avec cette méthode. La bibliographie (cf. partie I) propose actuellement la cytologie comme technique de référence.

A partir de là, il fallait encore définir les « seuils de positivité » pour chaque compartiment. Là encore, ce sont les données bibliographiques qui ont guidé notre choix, et le seuil de 6% pour l'utérus a été retenu pour notre intervalle de prélèvement compris entre 21 et 35 jours post-partum. On peut voir que ce seuil est globalement en accord avec ceux utilisés

dans les études préalables (tableau 5), à l'exception de Kasimanickam *et al.* (2004). Cependant, leur étude ne concernait que des vaches ne présentant aucun signe clinique alors que nous avons inclus toutes formes d'endométrites, aussi bien clinique que subclinique.

Tableau 5 : Valeurs des seuils de pourcentages de polynucléaires utilisés dans le diagnostic d'une endométrite en fonction des jours post-partum selon les études (source : Arocena et Gascue 2012).

Etude	Effectif	Jours post-partum (JPP)	Valeur seuil	Prévalence d'endométrite
<b>Kasimanickam <i>et al.</i> 2004</b>	228	20-23	18%	35%
		34-47	10%	34%
<b>Gilbert <i>et al.</i> 2005</b>	141	40-60	5%	53%
<b>Barlund <i>et al.</i> 2008</b>	221	28-41	8%	11%
<b>Galvão <i>et al.</i> 2009</b>	406	21±3	8,5%	67%
		35±3	6,5%	38%
		19±3	4%	37%
<b>Galvão <i>et al.</i> 2010</b>	80	42	10%	29%
<b>Dubuc <i>et al.</i> 2010b</b>	1044	35±3	6%	19%
		56±3	4%	11%
<b>Deguillaume 2010</b>	93	21-35	6%	43%

### II.1.3.2. Prévalence des endométrites

Si la valeur seuil du pourcentage de polynucléaires pour la détection des inflammations utérines est, pour une période post-partum donnée, relativement constante dans la littérature, il n'en est pas de même pour la prévalence des endométrites. On note une forte variabilité aussi bien inter-études qu'inter-élevages. Par exemple, on peut voir dans le tableau 4, qu'à 35 ± 3 JPP, avec des seuils de 6 et 6,5%, la prévalence des endométrites varie de 19 à 38% respectivement (Galvão *et al.* 2009, Dubuc *et al.* 2010). Cette variabilité inter-études est probablement en partie expliquée par la variabilité inter-élevages : sur 144 vaches provenant de 5 élevages distincts et avec un seuil de 5%, la prévalence par élevage varie de 37 à 74% (Gilbert *et al.* 2005). Des paramètres tels que le rang moyen de lactation (LeBlanc *et al.* 2002) ou la gestion de l'alimentation (Dubuc *et al.* 2010a) peuvent induire des variations de prévalence inter-élevages. On ne peut donc donner qu'une large fourchette concernant la prévalence des endométrites cytologiques, de 12% (Barlund *et al.* 2008) à 53% (Gilbert *et al.* 2005), avec des valeurs moyennes comprises entre 20 et 40% (Galvão *et al.* 2009a, 2009b, Dubuc *et al.* 2010).

Si nous retenons ces derniers pourcentages, nous pouvons en déduire qu'avec 38% de vaches souffrant d'endométrite (28 vaches sur 74), la prévalence d'endométrite dans les 2 élevages de notre étude est dans la moyenne des études précédemment menées.

## II.2. Détection d'une inflammation génitale

Dans ce paragraphe, seront employés les termes définis dans la partie I.5.3.

### II.2.1. Tests diagnostiques à partir de prélèvements vaginaux

#### II.2.1.1. Le frottis vaginal

Nos résultats, exposés dans la partie II.1.1.6., montrent qu'il n'existe pas de lien quantitatif entre les niveaux inflammatoires des différents compartiments. Cependant, en étudiant le lien entre l'état inflammatoire d'un des compartiments et le taux de neutrophiles vaginaux, nous avons vu que les vaches atteintes d'endométrite ou d'inflammation génitale présentent des taux moyens de neutrophiles vaginaux significativement plus élevés (2 fois plus élevés ;  $p = 0,0062$  et  $0,0065$  respectivement) que celles non atteintes. Les vaches atteintes de cervicite montrent également des taux moyens de neutrophiles vaginaux 1,5 fois plus élevés que celles non atteintes, sans que la différence ne soit significative.

Aussi, nous avons voulu savoir s'il existait un seuil de neutrophiles vaginaux permettant de détecter les vaches présentant une endométrite, une cervicite ou une inflammation génitale. Pour cela, nous avons réalisé des courbes ROC en faisant varier les seuils de taux de neutrophiles vaginaux.

- **Détection d'une endométrite**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 73 paires de données (utérus et vagin) : 45 vaches « endométrite négative » et 28 vaches « endométrite positive ».

Les pourcentages de neutrophiles vaginaux varient de 0 à 84%. Pour chacun de ces pourcentages considérés comme seuil, la sensibilité et la spécificité ont été calculées et reportées sur une courbe ROC représentant pour chaque seuil la sensibilité en ordonnée et  $(1 - \text{spécificité})$  en abscisse (figure 22).

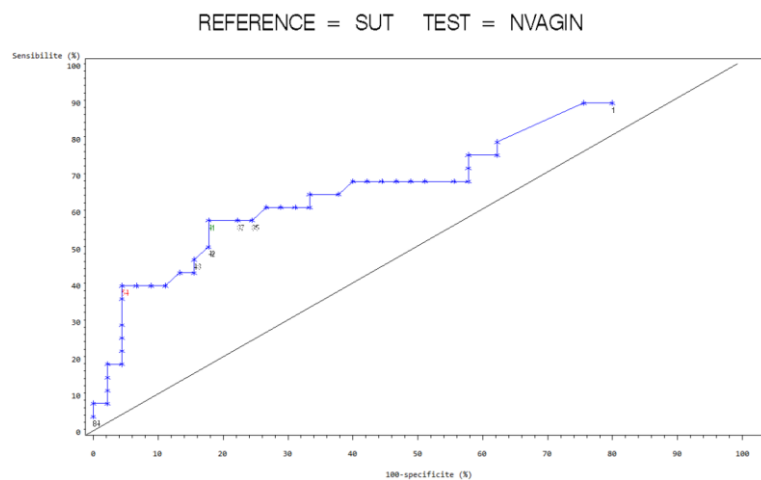


Figure 22 : Courbe ROC du test « frottis vaginal » pour la détection d'une endométrite.

Le seuil possédant l'indice de Youden le plus élevé est alors retenu comme seuil de positivité. Ici c'est le seuil de 41% de neutrophiles sur le frottis vaginal (Youden = 39,36) qui est choisi comme seuil de positivité permettant de détecter une endométrite. Ce seuil donne une sensibilité de 57,1%, une spécificité de 82,2% avec une VPP de 66,7% et une VPN de 75,5% (tableau 6).

Tableau 6 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut utérin (n=73). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; % N : % de neutrophiles.

% N vagin	Statut utérus		Total
	0	1	
≥ 41 %	8	16	24
< 41 %	37	12	49
<b>Total</b>	45	28	73
Se = 57,1%		Sp = 82,2%	
VPP = 66,7%		VPN = 75,5%	

- **Détection d'une cervicite**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 75 paires de données (col et vagin) : 57 vaches « cervicite négative » et 18 vaches « cervicite positive ». Les pourcentages de neutrophiles vaginaux varient de 0 à 84%. Les calculs de sensibilité et spécificité pour chaque seuil permettent de tracer une courbe ROC (annexe 3).

Comme pour l'endométrite, c'est le seuil de 41% de neutrophiles sur le frottis vaginal (Youden = 31,00) qui est obtenu comme seuil de positivité permettant de détecter une cervicite. Ce seuil donne une sensibilité de 55,6%, une spécificité de 75,4% avec une VPP de 41,7% et une VPN de 84,3% (tableau 7).

Tableau 7 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut cervical (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; % N : % de neutrophiles.

% N vagin	Statut col		Total
	0	1	
≥ 41 %	14	10	24
< 41 %	43	8	51
<b>Total</b>	57	18	75
Se = 55,6 %		Sp = 75,4 %	
VPP = 41,7 %		VPN = 84,3%	

- **Détection d'une inflammation génitale**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 73 paires de données (statut génital et vagin) : 43 femelles « inflammation génitale négative » et 30 femelles « inflammation génitale positive ». Les pourcentages de neutrophiles vaginaux varient de 0 à 84%. Les calculs de sensibilité et spécificité pour chaque seuil permettent de tracer une courbe ROC (annexe 4).

Comme pour l'inflammation de chaque compartiment considéré isolément, c'est le seuil de 41% de neutrophiles sur le frottis vaginal (Youden = 40,39) qui est obtenu comme seuil de positivité permettant de détecter une inflammation génitale.

Ce seuil donne une sensibilité de 56,7%, une spécificité de 83,7% avec une VPP de 70,8% et une VPN de 73,5% (tableau 8).

Tableau 8 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de neutrophiles vaginaux et du statut génital (n=73). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; % N : % de neutrophiles.

% N vagin	Statut génital		Total
	0	1	
≥ 41 %	7	17	24
< 41 %	36	13	49
<b>Total</b>	43	30	73
Se = 56,7%		Sp = 83,7%	
VPP = 70,8 %		VPN = 73,5 %	

### II.2.1.2. Mesure de la densité optique

Nous avons comparé respectivement 57 et 59 valeurs de densité optique du mucus vaginal aux taux de neutrophiles utérin et cervical. Le résultat de la densité optique (DO) lu au spectrophotomètre variait  $2,59 \cdot 10^6$  à  $4,46 \cdot 10^9$  (53 valeurs différentes). Les vaches pour lesquelles le spectrophotomètre indiquait la valeur de saturation ont été exclues de cette étude (d'où le faible effectif).

De la même manière que pour les taux de neutrophiles vaginaux, nous avons étudié le lien entre l'état inflammatoire d'un des compartiments et la valeur de la densité optique à l'aide d'un test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon. Une différence significative est observée pour les endométrites ( $p = 0,0111$ ) et les inflammations génitales ( $p = 0,0146$ ). En revanche, les densités optique ne sont pas significativement différentes entre les groupes « cervicite positive » et « cervicite négative » ( $p = 0,0819$ ).

- **Détection d'une endométrite**

Pour savoir s'il existe un seuil de densité optique capable de détecter les vaches atteintes d'endométrite, nous disposons d'un échantillon de 57 données : 39 vaches « endométrite négative » et 18 vaches « endométrite positive ». Les calculs de sensibilité et spécificité pour chaque seuil permettent de tracer une courbe ROC (annexe 5).

Là encore, c'est le seuil avec l'indice de Youden le plus élevé qui est retenu comme seuil de positivité permettant de détecter une endométrite, à savoir une DO égale à  $1,16 \cdot 10^9$  (Youden = 29,49). Ce seuil donne une sensibilité de 83,3%, une spécificité de 46,2% avec une VPP de 41,7% et une VPN de 85,7% (tableau 9).

Tableau 9 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut utérin (n=57). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

Densité optique	Statut utérus		Total
	0	1	
$\geq 1,16 \cdot 10^9$	21	15	36
$< 1,16 \cdot 10^9$	18	3	21
<b>Total</b>	39	18	57
Se = 83,3%		Sp = 46,2%	
VPP = 41,7%		VPN = 85,7%	

- **Détection d'une cervicite**

Nous disposons d'un échantillon de 59 données : 47 femelles « cervicite négative » et 12 femelles « cervicite positive ». Les calculs de sensibilité et spécificité pour chaque seuil permettent de tracer une courbe ROC (annexe 6).

Le seuil de DO retenu est de  $1,10 \cdot 10^9$  (Youden = 29,96). Ce seuil donne une sensibilité de 91,7%, une spécificité de 38,3% avec une VPP de 27,5% et une VPN de 94,7% (tableau 10).

Tableau 10 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut cervical (n=59). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

Densité optique	Statut cervical		Total
	0	1	
$\geq 1,10 \cdot 10^9$	29	11	40
$< 1,10 \cdot 10^9$	18	1	19
<b>Total</b>	47	12	59
Se = 91,7%		Sp = 38,3%	
VPP = 27,5%		VPN = 94,7%	

- **Détection d'une inflammation génitale**

Nous disposons d'un échantillon de 57 données : 37 vaches « inflammation génitale négative » et 20 vaches « inflammation génitale positive ». Les calculs de sensibilité et spécificité pour chaque seuil permettent de tracer une courbe ROC (annexe 7), fournissant un seuil de DO de  $1,10 \cdot 10^9$  (Youden = 28,24). Ce seuil donne une sensibilité de 85,0%, une spécificité de 43,2% avec une VPP de 44,7% et une VPN de 84,2% (tableau 11).

Tableau 11 : Répartition des vaches en fonction du seuil optimal de densité optique et du statut génital (n=57). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

Densité optique	Statut génital		Total
	0	1	
$\geq 1,10 \cdot 10^9$	21	17	38
$< 1,10 \cdot 10^9$	16	3	19
<b>Total</b>	37	20	57
Se = 85,0%		Sp = 43,2 %	
VPP = 44,7%		VPN = 84,2%	

### II.2.1.3. La mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal

Nous avons comparé respectivement 75 et 77 valeurs de taux de leucocytes du mucus vaginal aux taux de neutrophiles utérin et cervical. Le résultat lu sur la bandelette urinaire

pouvait prendre 4 valeurs différentes (0, 1, 2 ou 3) selon le taux de leucocytes (0, 1, 2 ou 3 croix).

Nous avons étudié le lien entre l'état inflammatoire d'un des compartiments et la valeur du taux de leucocytes à l'aide d'un test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon. Une différence significative est observée pour l'endométrite ( $p = 0,0008$ ), la cervicite ( $p = 0,0077$ ) et l'inflammation génitale ( $p = 0,0024$ ) entre les groupes « positif » et « négatif ».

- **Détection d'une endométrite**

Pour savoir s'il existe un seuil de leucocytes sur la bandelette urinaire du mucus vaginal qui permet de détecter les vaches présentant une endométrite, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 46 femelles « endométrite négatives » et 29 femelles « endométrite positives » (tableau 12).

Tableau 12 : Tableau de contingence entre le statut utérin des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=75).

LEUCO	Statut utérin		Total
	0	1	
0	17	5	22
	22,7%	6,7%	29,3%
1	6	4	10
	8,0%	5,3%	13,3%
2	16	1	17
	21,3%	1,3%	22,7%
3	7	19	26
	9,3%	25,3%	34,7%
Total	46	29	75
	61,3%	38,7%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 8), on trouve que le meilleur seuil de détection des endométrites est la valeur 3 (Youden = 50,30), correspondant à 3 croix de leucocytes sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la sensibilité est de 65,5% et la spécificité de 84,8% avec une VPP de 73,1% et une VPN de 79,6% (tableau 13).



Tableau 13 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ;  
LEUCO : taux de leucocytes (bandelette urinaire).

LEUCO	Statut utérus		Total
	0	1	
≥ 3	7	19	26
< 3	39	10	49
<b>Total</b>	46	29	75
Se = 65,5%		Sp = 84,8%	
VPP = 73,1%		VPN = 79,6%	

- **Détection d'une cervicite**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 77 données : 58 vaches « cervicite négative » et 19 vaches « cervicite positives » (tableau 14).

Tableau 14 : Tableau de contingence entre le statut cervical des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=77).

LEUCO	Statut col		Total
	0	1	
<b>0</b>	19	4	23
	24,7%	5,2%	29,9 %
<b>1</b>	9	1	10
	11,7 %	1,3%	13,0%
<b>2</b>	17	1	18
	22,1%	1,3 %	23,4%
<b>3</b>	13	13	26
	16,9%	16,9 %	33,8%
<b>Total</b>	58	19	77
	75,3%	24,7%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 9), on trouve que le meilleur seuil de détection des cervicites est la valeur 3 (Youden = 46,01), correspondant à 3 croix de leucocytes sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la sensibilité est de 68,4% et la spécificité de 77,5% avec une VPP de 50,0% et une VPN de 88,2% (tableau 14).

Tableau 15 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut cervical (n=77). Caractéristiques du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ;  
LEUCO: taux de leucocytes (bandelette urinaire).

LEUCO	Statut col		Total
	0	1	
≥ 3	13	13	26
< 3	45	6	51
<b>Total</b>	58	19	77
Se = 68,4%		Sp = 77,6%	
VPP = 50,0%		VPN = 88,2%	

- **Détection d'une inflammation génitale**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 44 femelles « inflammation génitale négative » et 31 vaches « inflammation génitale positive » (tableau 16).

Tableau 16 : Tableau de contingence entre le statut génital des vaches et le taux de leucocytes du liquide vaginal (LEUCO) (n=75).

LEUCO	Statut génital		Total
	0	1	
<b>0</b>	16	6	22
	21,3%	8,0%	29,3 %
<b>1</b>	6	4	10
	8,0%	5,3%	13,3 %
<b>2</b>	15	2	17
	20,0%	2,7%	22,7%
<b>3</b>	7	19	26
	9,3%	25,3%	34,7 %
<b>Total</b>	44	31	75
	58,7 %	41,3%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 10), on trouve que le meilleur seuil de détection des inflammations génitales est la valeur 3 (Youden = 45,38), correspondant à 3 croix de leucocytes sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la sensibilité est de 61,3% et la spécificité de 84,1% avec une VPP de 73,1% et une VPN de 75,5% (tableau 17).

Tableau 17 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de leucocytes et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ;  
LEUCO : taux de leucocytes (bandelette urinaire).

LEUCO	Statut génital		Total
	0	1	
≥ 3	7	19	26
< 3	37	12	49
<b>Total</b>	44	31	75
Se = 61,3%		Sp = 84,1%	
VPP = 73,1%		VPN = 75,5%	

#### II.2.1.4. La mesure du taux de protéines du liquide vaginal

Nous avons comparé respectivement 75 et 77 valeurs de protéines du mucus vaginal aux taux de neutrophiles utérin et cervical. Le résultat lu sur la bandelette urinaire pouvait prendre 4 valeurs différentes (0, 1, 2 ou 3) selon le taux de protéines (0, 1, 2 ou 3 croix).

Nous avons étudié le lien entre l'état inflammatoire d'un des compartiments et la valeur du taux de protéines à l'aide d'un test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon. Une différence significative est observée pour l'endométrite ( $p = 0,0096$ ), la cervicite ( $p = 0,0200$ ) et l'inflammation génitale ( $p = 0,0135$ ) entre les groupes « positif » et « négatif ».

- **Détection d'une endométrite**

Pour savoir s'il existe un seuil de protéines sur la bandelette urinaire du mucus vaginal qui permet de détecter les vaches présentant une endométrite, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 46 « endométrite négatives » et 29 « endométrite positives » (tableau 18).

Tableau 18 : Tableau de contingence entre le statut utérin des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=75).

PROT	Statut utérus		Total
	0	1	
<b>0</b>	5	1	6
	6,7%	1,3%	8,0%
<b>1</b>	21	6	27
	28,0%	8,0%	36,0%
<b>2</b>	14	15	29
	18,7%	20,0%	38,7%
<b>3</b>	6	7	13
	8,0%	9,3%	17,3%
<b>Total</b>	46	29	75
	61,3%	38,7%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 11), on trouve que le meilleur seuil de détection des endométrites est la valeur 2 (Youden = 32,38), correspondant à 2 croix de protéines sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la sensibilité est de 75,9% et la spécificité de 56,5% avec une VPP de 52,4% et une VPN de 78,8% (tableau 19).

Tableau 19 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

PROT	Statut utérus		Total
	0	1	
≥ 2	20	22	42
< 2	26	7	33
<b>Total</b>	46	29	75
Se = 75,9%		Sp = 56,5%	
VPP = 52,4%		VPN = 78,8%	

- **Détection d'une cervicite**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 77 données : 58 femelles « cervicite négative » et 19 femelles « cervicite positive » (tableau 20).

Tableau 20 : Tableau de contingence entre le statut cervical des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=77).

PROT	Statut col		Total
	0	1	
<b>0</b>	6	0	6
	7,8%	0%	7,8%
<b>1</b>	25	3	28
	32,5%	3,9%	36,4%
<b>2</b>	18	13	31
	23,4%	16,9%	40,2%
<b>3</b>	9	3	12
	11,7%	3,9%	15,6%
<b>Total</b>	58	19	77
	75,3%	24,7%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 12), on trouve que le meilleur seuil de détection des cervicites est la valeur 2 (test de Youden = 37,66), correspondant à 2

croix de protéines sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la sensibilité est de 84,2% et la spécificité de 53,4% avec une VPP de 37,2% et une VPN de 91,2% (tableau 21).

Tableau 21 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut cervical (n=77). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

PROT	Statut col		Total
	0	1	
≥ 2	27	16	43
< 2	31	3	34
<b>Total</b>	58	19	77
Se = 84,2%		Sp = 53,5 %	
VPP = 37,2%		VPN = 91,2%	

- **Détection d'une inflammation génitale**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 44 vaches « inflammation génitale négative » et 31 vaches « inflammation génitale positives » (tableau 22).

Tableau 22 : Tableau de contingence entre le statut génital des vaches et le taux de protéines du liquide vaginal (PROT) (n=75).

PROT	Statut génital		Total
	0	1	
<b>0</b>	5	1	6
	6,7%	1,3%	8,0%
<b>1</b>	20	7	27
	26,7%	9,3 %	36,0%
<b>2</b>	13	16	29
	17,3%	21,3%	38,7%
<b>3</b>	6	7	13
	8,0%	9,3%	17,3%
<b>Total</b>	44	31	75
	58,7%	41,3%	100%

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 13), on trouve que le meilleur seuil de détection des inflammations génitales est la valeur 2 (Youden = 31,01), correspondant à 2 croix de protéines sur la bandelette urinaire. Pour cette valeur seuil, la

sensibilité est de 74,2% et la spécificité de 56,8% avec une VPP de 54,8% et une VPN de 75,8% (tableau 23).

Tableau 23 : Répartition des vaches en fonction du taux optimal de protéines (PROT) et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

PROT	Statut génital		Total
	0	1	
≥ 2	19	23	42
< 2	25	8	33
<b>Total</b>	44	31	75
Se = 74,2%		Sp = 56,8%	
VPP = 54,8 %		VPN = 75,8%	

#### II.2.1.5. La mesure du pH du liquide vaginal

Nous avons comparé respectivement 75 et 77 valeurs de pH du mucus vaginal aux taux de neutrophiles utérin et cervical. Le résultat du pH lu sur la bandelette urinaire variait de 6 à 9 avec un pas de 0,5 (7 valeurs différentes).

Nous avons étudié le lien entre l'état inflammatoire d'un des compartiments et la valeur du pH du liquide vaginal à l'aide d'un test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon. Aucune différence significative n'est observée que ce soit pour l'endométrite ( $p = 0,5175$ ), la cervicite ( $p = 0,4980$ ) ou l'inflammation génitale ( $p = 0,4563$ ) entre les groupes « positif » et « négatif ».

- **Détection d'une endométrite**

Pour savoir s'il existe une valeur-seuil du pH du mucus vaginal qui permet de détecter les vaches présentant une endométrite, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 46 vaches « endométrite négative » et 29 vaches « endométrite positive » (tableau 24). Les seuils de pH du mucus vaginal varient de 6 à 9 avec un pas de 0,5. Les calculs de sensibilité et spécificité pour chacun de ces 7 seuils permettent de tracer une courbe ROC.

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 14), on trouve que le meilleur seuil de détection des inflammations utérines est le seuil de  $\text{pH} = 7$  (Youden = 12,29). Ce seuil donne une sensibilité de 86,2%, une spécificité de 26,1% avec une VPP de 42,4% et une VPN de 75,0% (tableau 24).

Tableau 24 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut utérin (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

pH	Statut utérus		Total
	0	1	
≥ 7	34	25	59
< 7	12	4	16
<b>Total</b>	46	29	75
Se = 86,2%		Sp = 26,1%	
VPP = 42,4%		VPN = 75,0%	

- **Détection d'une cervicite**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 77 données : 58 femelles « cervicite négative » et 19 femelles « cervicite positive » (tableau 25).

Tableau 25 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut cervical (n=77). Caractéristiques du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative

pH	Statut col		Total
	0	1	
≥ 8	26	9	35
< 8	32	10	42
<b>Total</b>	58	19	77
Se = 47,4%		Sp = 55,2%	
VPP = 25,7%		VPN = 76,2%	

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 15), on trouve que le meilleur seuil de détection des inflammations cervicales est le seuil de pH = 8 (Youden = 2,54). Ce seuil donne une sensibilité de 47,4%, une spécificité de 55,2% avec une VPP de 25,7% et une VPN de 76,2% (tableau 25).

- **Détection d'une inflammation génitale**

Pour ce test, nous disposons d'un échantillon de 75 données : 44 vaches « inflammation génitale négatives » et 31 vaches « inflammation génitale positives » (tableau 26).

Tableau 26 : Répartition des vaches en fonction de la valeur optimale du pH et du statut génital (n=75). Performances du test pour cette valeur seuil.

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

pH	Statut Génital		Total
	0	1	
$\geq 7$	33	26	59
$< 7$	11	5	16
<b>Total</b>	44	31	75
Se = 83,9%		Sp = 25,0%	
VPP = 44,1%		VPN = 68,8%	

En appliquant le principe de la courbe ROC (annexe 16), on trouve que le meilleur seuil de détection des inflammations génitales est le seuil de pH = 7 (Youden = 8,87). Ce seuil donne une sensibilité de 83,9%, une spécificité de 25,0% avec une VPP de 44,1% et une VPN de 68,8% (tableau 26).

## II.2.2. Comparaison des différents tests diagnostiques

- **Détection d'une endométrite**

De tous les critères diagnostiques testés lors de cette étude, il ressort que le paramètre le plus fiable dans la détection des endométrites serait la mesure du taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal avec un seuil à 3+ sur la bandelette urinaire (tableau 27) :

- 2/3 des vaches présentant une endométrite ont un résultat  $\geq 3+$
- 85% des vaches à utérus sain ont un résultat  $< 3+$
- avec un résultat de 3+, la vache a 73% de chance d'être atteinte d'une endométrite
- si le résultat est  $< 3+$ , la vache a quasiment 80% de chance d'avoir un utérus sain.

Dans un élevage possédant peu de vaches à endométrites, on privilégiera le test le plus sensible afin de détecter au mieux les quelques vaches à endométrite : la mesure du pH du liquide de lavage vaginal est alors le test le plus adapté (sensibilité la plus élevée avec 86,2%).



Au contraire, dans un élevage fortement touché par les endométrites, on privilégiera le test avec la meilleure sensibilité afin de ne pas traiter les vaches saines : on choisira alors de mesurer le taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal.

Tableau 27 : Tableau comparatif des performances diagnostiques de tous les tests dans la détection des endométrites.

% N : taux de neutrophiles vaginaux ; DO : densité optique.

Test	Seuil de positivité	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)	Indice de Youden
Mesure du taux de leucocytes du mucus vaginal	Leucocytes $\geq 3+$	65,5	84,8	73,1	79,6	50,3
Frottis vaginal	% N $\geq 41\%$	57,1	82,2	66,7	75,5	39,4
Mesure du taux de protéines du mucus vaginal	Protéines $\geq 2+$	75,9	56,5	52,4	78,8	32,4
Mesure de la densité optique du mucus vaginal	DO $\geq 1,16 \cdot 10^9$	83,3	46,2	41,7	85,7	29,5
Mesure du pH du liquide vaginal	pH $\geq 7$	86,2	26,1	42,4	75,0	12,3

- Détection d'une cervicite

De la même façon, le paramètre le plus fiable dans la détection des cervicites est la mesure du taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal avec un seuil à 3+ sur la bandelette urinaire (tableau 28) :

- 2/3 des vaches présentant une cervicite ont un résultat  $\geq 3+$
- 78% des vaches avec un col sain ont un résultat  $< 3+$
- avec un résultat de 3+, la vache a une chance sur 2 d'être atteinte d'une cervicite
- si le résultat est  $< 3+$ , la vache a 88% de chance d'avoir un col sain.

Le test le plus sensible est la mesure de la densité optique du mucus vaginal alors que le plus spécifique est la mesure du taux de leucocytes avec une bandelette urinaire.

Tableau 28 : Tableau comparatif des performances diagnostiques de tous les tests dans la détection des cervicites.

% N : taux de neutrophiles vaginaux ; DO : densité optique

Test	Seuil de positivité	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)	Indice de Youden
Mesure du taux de leucocytes du mucus vaginal	Leucocytes $\geq 3+$	68,4	77,6	50,0	88,2	46,0
Mesure du taux de protéines du mucus vaginal	Protéines $\geq 2+$	84,2	53,5	37,2	91,1	37,7
Frottis vaginal	% N $\geq 41\%$	55,6	75,4	41,7	84,3	31,0
Mesure de la densité optique du mucus vaginal	DO $\geq 1,10 \cdot 10^9$	91,7	38,3	27,5	94,7	30,0
Mesure du pH du liquide vaginal	pH $\geq 8$	47,4	55,2	25,7	76,2	2,6

- Détection d'une inflammation génitale

De la même façon, le paramètre le plus fiable dans la détection des inflammations génitales est la mesure du taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal avec un seuil à 3+ sur la bandelette urinaire (tableau 29) :

- 61% des vaches présentant une inflammation génitale ont un résultat  $\geq 3+$
- 84% des vaches avec un appareil génital sain ont un résultat  $< 3+$
- avec un résultat de 3+, la vache a 73% de chance de présenter une inflammation du col ou de l'utérus
- si le résultat est  $< 3+$ , la vache a 76% de chance d'avoir un appareil génital sain.

Le test le plus sensible est la mesure de la densité optique du mucus vaginal alors que le plus spécifique est la mesure du taux de leucocytes avec une bandelette urinaire.

Tableau 29 : Tableau comparatif des performances diagnostiques de tous les tests dans la détection des inflammations génitales.

% N : taux de neutrophiles vaginaux ; DO : densité optique.

Test	Seuil de positivité	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)	Indice de Youden
Mesure du taux de leucocytes du mucus vaginal	Leucocytes $\geq 3+$	61,3	84,1	73,1	75,5	45,4
Frottis vaginal	% N $\geq 41\%$	56,7	83,7	70,8	73,5	40,4
Mesure du taux de protéines du mucus vaginal	Protéines $\geq 2+$	74,2	56,8	54,8	75,8	31,0
Mesure de la densité optique du mucus vaginal	DO $\geq 1,16 \cdot 10^9$	85,0	43,2	44,7	84,2	28,2
Mesure du pH du liquide vaginal	pH $\geq 7$	83,9	25,0	44,1	68,8	8,9

### III. Discussion

#### III.1. Discussion sur les matériels et méthodes

- **Choix des élevages**

Les deux élevages retenus ne sont pas vraiment représentatifs du troupeau laitier moyen français (45 vaches laitières en moyenne, production laitière de 6463 kg/vache/an ; données 2011, source AGRESTE). Ainsi, nos résultats mériteraient d'être vérifiés dans d'autres élevages. Les vaches étaient toutes prélevées dans l'intervalle 21 à 35 jours post-partum, période pour laquelle la bibliographie (Gilbert *et al.* 2005, Galvao *et al.* 2009, Dubuc *et al.* 2010, Deguillaume *et al.* 2012) fournit les seuils de neutrophiles permettant de définir une endométrite et/ou une cervicite (respectivement 6% et 5%).

- **Liquide vaginal**

Nous avons choisi de travailler sur le liquide de lavage vaginal et non sur le mucus vaginal directement car ce dernier est trop visqueux pour pouvoir être utilisé, et sa consistance est très hétérogène d'une vache à l'autre. Cependant, le liquide ré-aspiré posait parfois problème, de par sa quantité (de 5 à 20 ml), sa consistance parfois très visqueuse et son hétérogénéité. L'absence de lubrification permet d'éviter que la lecture de l'échantillon ne soit modifiée par la présence de gel. Cependant, ce prélèvement manque de répétabilité d'une vache à l'autre en raison du facteur de dilution du mucus vaginal : il était parfois très compliqué de ré-aspirer quelques millilitres de liquide alors que pour d'autres vaches, nous retirions jusqu'à 40 mL alors que dans les deux cas, 20 mL de NaCl avaient été injectés. De plus, de par la consistance parfois très visqueuse du liquide vaginal recueilli, nous avons rencontré des difficultés à bien imprégner les bandelettes. Les résultats devront ainsi tenir compte de ces paramètres.

- **Cytologie**

D'après les recherches bibliographiques, la cytologie endométriale apparaît comme étant une méthode fiable pour établir la présence ou l'absence d'une inflammation au niveau de l'utérus et ce, qu'elle soit réalisée à partir de cytobrosses ou de lavages utérins (Azawi, 2008). Barlund *et al.* (2008) précisent que la collecte par cytobrosse présente une meilleure répétabilité intra-opérateur que le lavage utérin ( $\rho_c = 0,85$  et  $\rho_c = 0,76$  respectivement). Nous avons choisi l'utilisation de cytobrosses afin de pouvoir conserver la même méthode de prélèvement au niveau du vagin, du col ou de l'utérus.

Avant la lecture des lames, une rapide formation a été suivie au laboratoire de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse afin d'apprendre les critères de reconnaissance des cellules. Une dizaine de lames prélevées de la même façon au cours d'études antérieures ont permis de se familiariser avec la méthode de lecture et de définir le protocole. Chaque lame a été lue par un seul opérateur après que la corrélation entre les lectures des 2 opérateurs ait été vérifiée. Pour cela, les dix premières lames ont été lues par les 2 opérateurs en parallèle et les résultats ont été comparés, permettant de s'assurer de la concordance de lecture entre les 2 opérateurs. Sur ces 10 lames lues, les pourcentages de neutrophiles par rapport aux cellules

épithéliales étaient quasi similaires entre les 2 opérateurs (moins de 1 point de neutrophiles de différence en moyenne). Les résultats étant concordants, la lecture des lames ont donc été répartie équitablement entre les 2 opérateurs.

- **Spectrophotométrie**

La spectrophotométrie est un moyen fiable pour préjuger de la quantité de cellules présentes dans un liquide donné. C'est pourquoi nous avons cherché à savoir s'il existait une corrélation statistique entre la spectrophotométrie du liquide de lavage vaginal et le degré d'inflammation génitale. Trois points sont néanmoins à souligner quant à l'interprétation des mesures de densité optique :

- Les écoulements purulents, de par leur opacité, étaient la plupart du temps illisibles pour le spectrophotomètre ce qui a exclu des valeurs toutes les vaches ayant une inflammation majeure
- La présence de flammèches de fibrine ou de tout autre débris contenus dans le mucus vaginal qui augmentent la réfraction de la lumière laisse à penser que les valeurs de densité obtenues ne reflètent pas nécessairement la concentration cellulaire au sein de l'échantillon.
- L'impossibilité d'homogénéiser les prélèvements de par leur viscosité suggère que l'hétérogénéité de certains prélèvements représente un biais supplémentaire.

Cette hypothèse est validée par le fait que la corrélation statistique entre le taux de neutrophiles vaginaux et densité optique soit très faible et non significative (paragraphe II.1.1.7.). Cependant, de même que lors de cytologie du produit de lavage vaginal, nous avons montré que si la spectrophotométrie ne permet pas de discriminer les vaches atteintes d'endométrite, elle permet cependant de s'orienter pour celles atteintes d'une inflammation génitale.

A notre connaissance, aucune étude n'a été menée sur les mesures de densité optique du mucus vaginal. En 1993, une étude a montré qu'une mesure d'impédance sur le mucus vaginal permettait d'améliorer faiblement le taux de détection de l'œstrus (12% supplémentaires, non détectés par l'observation seule).

### **III.2. Discussion sur les résultats**

En comparant nos résultats à ceux obtenus par Deguillaume *et al.* (2010), on s'aperçoit que la mesure du taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal, à l'aide d'une bandelette urinaire, possède des performances statistiques tout à fait honorables dans le diagnostic des inflammations génitales. Comme le montre le tableau 30, ces performances sont même globalement meilleures que celles obtenues par l'observation macroscopique du mucus vaginal (en utilisant la notation proposée par Williams). Cette méthode peut donc être utilisée en remplacement ou en complément de l'observation macroscopique du liquide vaginal, et ce avec un coût très faible (une bandelette urinaire), un prélèvement très vite réalisé (3 minutes) et une réponse immédiate, au pied de la vache.

Il aurait été tentant d'essayer d'associer plusieurs méthodes pour essayer d'augmenter les performances diagnostiques des tests, mais on pourrait craindre que, comme dans l'étude de Deguillaume présentée dans la partie III.4., la multiplication de critères ne fasse que détériorer les performances diagnostiques des tests.

Tableau 30 : Tableau récapitulatif comparant les performances de nos tests aux tests de l'étude de Deguillaume (2010) dans le diagnostic d'une inflammation endométriale (plus de 6% de neutrophiles), endocervicale (plus de 5% de neutrophiles) ou génitale pathologiques (plus de 6% de neutrophiles sur un frottis endométrial et/ou plus de 5% de neutrophiles sur un frottis endocervical).

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; Diam : diamètre ; Echo : échographie

Les notes des sécrétions vaginales reprennent la notation proposée par Williams *et al.* (2005).

Critères diagnostiques	Inflammation utérine				Inflammation cervicale				Inflammation génitale			
	Se	Sp	VPP	VPN	Se	Sp	VPP	VPN	Se	Sp	VPP	VPN
Leucocytes $\geq 3 +$	66%	85%	73%	80%	68%	78%	50%	88%	61%	84%	73%	76%
Sécrétions vaginales : note 3 ou 4	60%	83%	73%	73%	61%	82%	70%	75%	56%	88%	85%	63%
Sécrétions vaginales : note 2, 3 ou 4	80%	53%	56%	78%	84%	55%	56%	83%	80%	61%	70%	72%



## CONCLUSION

L'objectif de ce travail consistait à tenter d'améliorer le diagnostic des endométrites ou plus généralement des inflammations génitales post-partum chez les vaches laitières par rapport à ce que permettent les techniques cliniques classiques (palpation transrectale, examen des sécrétions vaginales). Nous avons testé l'intérêt d'analyses de prélèvements vaginaux afin de s'affranchir de la contrainte du cathétérisme cervical. Cet objectif a donc été rempli, puisque nous avons montré que des tests simples, peu coûteux, réalisables au pied de la vache permettent de détecter plus ou moins finement des vaches présentant une inflammation génitale voire plus spécifiquement des vaches à endométrite.

Au-delà de cet objectif, notre étude a contribué au développement de certaines connaissances, notamment sur l'inflammation vaginale et ses relations avec les compartiments utérin et cervical voisins. Il apparaît que l'utérus, le col et le vagin constituent trois compartiments bien distincts du point de vue inflammatoire, malgré leur proximité physique et leurs relations anatomiques.

L'endométrite chez la vache laitière reste une entité pathologique difficile à approcher, tant en terme de diagnostic que de traitement. Notre étude aura modestement contribué à en améliorer le diagnostic, grâce notamment à l'usage de bandelette urinaire sur liquide de lavage vaginal.

Au cours de notre étude, l'inflammation vaginale n'a été utilisée que comme moyen diagnostique de l'inflammation génitale, et c'est cette dernière qui est considérée comme pénalisant les performances de reproduction. Une autre approche intéressante consisterait à évaluer si l'inflammation vaginale elle-même, indépendamment de l'inflammation utérine ou cervicale, ne pourrait pas directement pénaliser les performances de reproduction des vaches en post-partum.

Dans une vision plus globale, comme nous avons montré que l'inflammation génitale était la conséquence d'un dérèglement de l'équilibre inflammatoire (soit par défaut, soit par excès), il serait intéressant de s'intéresser à l'inflammation globale de l'organisme en post-partum, par l'évaluation de l'état inflammatoire d'autres organes, comme le pied ou la mamelle par exemple.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

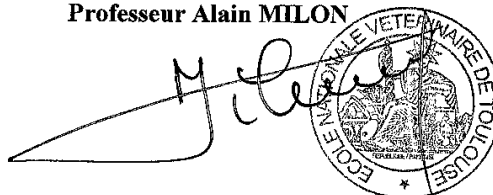
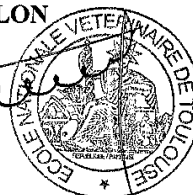
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **Sylvie CHASTANT**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ROUMEGOUS Martin** intitulée « *Evaluation de l'intérêt de méthodes diagnostiques de l'inflammation génitale chez la vache, à partir de prélèvements vaginaux.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

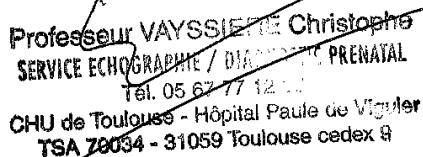
Fait à Toulouse, le 19 novembre 2013  
Professeur Sylvie CHASTANT  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



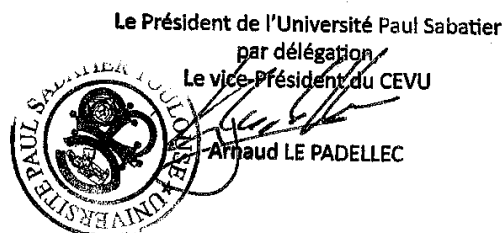

Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON

Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Christophe VAYSSIERE

  
Professeur VAYSSIERE Christophe  
SERVICE ECHOGRAPHIE / DIAGNOSTIC PRENATAL  
Tél. 05 62 77 12 11  
CHU de Toulouse - Hôpital Paule de Viglier  
TSA 70034 - 31059 Toulouse cedex 9

Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT

  
Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation  
Le vice-Président du CEVU  
Arnaud LE PADELLEC  


**M. ROUMEGOUS Martin**  
a été admis(e) sur concours en : 2008  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 12/07/2012  
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aknazarov BK. (1988) Study of humoral factors of local protective function in cows. *Veterinariya*, **8**, 41-43.
- Arocena E, Gascue N. (2012) Inflammation génitale chez la vache : mise au point de méthodes diagnostiques de terrain – Evaluation de l'efficacité de la flunixin par voie parentérale. *Thèse Doc. Vet., Toulouse*, 143 p.
- Azawi OI. (2008) Postpartum uterine infection in cattle : A review. *Anim. Reprod. Sci.*, **105**, 187-208.
- Badinand F, Constantin A, Meissonnier E. (1981) L'involution utérine. *L'utérus de la vache*. Société Française de buiatrie, Toulouse, 355p.
- Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. (2008) A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, **690**, 714-723.
- Baumann H, Gauldie J. (1994) The acute phase response. *Immunol. Today*, **15**, 74-80.
- Beutler B, Hoebe K, Du X, Ulevitch RJ. (2003) How we detect microbes and respond to them: toll-like receptors and their transducers. *J. Leuc. Biol.*, **74**, 479-485.
- Bonnett BN, Martin SW, Meek AH. (1993) Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, **15**, 205-220.
- Butler JE. (1983) Bovine immunoglobulins : an augmented review. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **43**, 43-52.
- Butt BM, Besser TE, Senger PL, Windders PR. (1993) Specific antibody to *Haemophilus somnus* in the bovine uterus following intramuscular immunization. *Inf. Immun.*, **61**, 2558-2562.
- Cai TQ, Weston PG, Lund LA, Brodie B, McKenna DJ, Wagner WC. (1994) Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.*, **55**, 934-943.
- Chan JP, Chang CC, Hsu WL, Liu WB, Chen TH. (2009) Association of increased serum acute-phase protein concentrations with reproductive performance in dairy cows with postpartum metritis. *Vet. Clin. Pathol.*, **39**, 72-78.

Chapwanya A, Meade KG, Doherty ML, Callanan JJ, Mee JF, 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.

Chapwanya A, Meade KG, Narciandi F, Standley P, Mee JF, Doherty ML, Callahan CJ, O'Farrelly C. (2010) Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology*, **73**, 988-994.

Chastant-Maillard S, Fournier R. (2011) Virage diagnostique et thérapeutique sur les endométrites. *Point Vét.*, **318**, 56-60.

Coche B, Le Coustumier J, Zundel E. (1987) L'involution utérine. *Bull. GTV*, **87-2-B-304**, 43-67.

Corbeil LB, Duncan JR, Schurig GG, Hall CE, Winter AJ. (1974a) Bovine venereal vibriosis: variation in immunoglobulin calls of antibodies in genital secretions and serum. *Inf. Immun.*, **10**, 1084-1090.

Corbeil LB, Schurig JR, Duncan JR, Corbeil RR, Winter AJ. (1974b) Immunoglobulin classes and biological function of *Campylobacter (Vibrio) fetus* antibodies in serum and cervicovaginal mucus. *Inf. Immun.*, **10**, 422-429.

Daragon B. (2011) L'inflammation génitale chez la vache : comparaison de l'état inflammatoire des différents compartiments. *Thèse Doc. Vet., Créteil*, 72 p.

Deguillaume L. (2007) Etude comparative des différentes techniques de diagnostic des métrites chroniques chez la vache. *Thèse Doc. Vet., Créteil*, 109 p.

Deguillaume L. (2010) L'inflammation génitale post-partum de la vache. *Thèse Doc., Agro Paris Tech.*, 206 p.

Delacour H. (2005) La courbe ROC : principes et principales applications en biologie clinique. *Annales de Biologie Clinique*, **63**, n° 2, 145-154.

Del Vecchio RP, Matsas DJ, Inzana TJ, Sponenberg DP, Lewis GS. (1992) Effect of intrauterine bacterial infusions and subsequent endometritis on prostaglandin F2 alpha metabolite concentrations in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, **70**, 3158-3162.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. (2010a) Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **93**, 5764-5771.

- Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. (2010b) Definition and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **93**, 5225-5233.
- Elliott L, McMahon KJ, Gier HT, Marion GB. (1968) Uterus of the cow after parturition : bacterial content. *Am. J. Vet. Res.*, **29**, 77-81.
- Foldi J, Kulcsar M, Pecsí A, Huyghe B, de Sa C, Lohuis JA, Cox P, Huszenicza G. (2006) Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **96**, 265-281.
- Galvão KN, Frajblat M, Brittin SB, Butler WR, Guard CL, Gilbert RO. (2009a) Effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> on subclinical endometritis and fertility in dairy cow. *J. Dairy Sci.*, **92**, 4906-4913.
- Galvão KN, Greco LF, Vilela JM, Sá Filho MF, Santos JEP. (2009b) Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **92**, 1532-1542.
- Gier HT, Marion GB. (1968) Uterus of the cow after parturition: involutinal changes. *Am. J. Vet. Res.*, **29**(1), 83–96.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN. (1998) Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **49**, 251-254.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **64**, 1879-1888.
- Glasel, J. A. (1995) Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios. *Biotechniques*, **18**, 62–63.
- Gloor H. (1967) Cervicitis als Sterilitätsursache [Cervicitis as a cause of sterility]. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, **109**, 574-579.
- Griffin JFT, Hartigan PJ, Nunn WR. (1974) Non-specific uterine infection and bovine fertility. I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology*, **1**(3), 91–106.
- Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL. (2006) Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **113**, 21-29.

- Hanzen C, Theron L, Simon A, Deguillaume L. (2009) Infections uterines : définitions, symptômes et diagnostic. *Point Vét.*, **299**, 41-46.
- Hendricks KE, Hansen PJ. (2010) Consequences for the bovine embryo of being derived from a spermatozoon subjected to oxidative stress. *Aust. Vet. J.*, **88**, 307-310.
- Herath S, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. (2006) Use of the cow as a large animal model of uterine infection and immunity. *J. Reprod. Immunol.*, **69**, 13-22.
- Herath S, Williams EJ, Lilly ST, Gilbert RO, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. (2007) Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*, **134**, 683-693.
- Herath S, Lilly ST, Fischer DP, Williams EJ, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. (2009) Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  to prostaglandin E<sub>2</sub> in bovine endometrium. *Endocrinology*, **150**, 1912-1920.
- Hussain AM. (1989) Bovine uterine defense mechanisms : A review. *J. Vet. Med. B.*, **36**, 641-651.
- Hussain AM, Daniel RC, O'Boyle D. (1990) Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows. *Theriogenology*, **34**, 291-302.
- Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. (2004) Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **62**, 9-23.
- Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. (2005) A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*, **46**, 255-259.
- Kim IH, Na KJ, Yang MP. (2005) Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *J. Reprod. Dev.*, **51**, 757-764.
- Kossaibati MA, Esslemont RJ. (1997) The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet. J.*, **154**, 41-51.
- LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. (2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **85**, 2223-2236.

- Mascarhenas R. (1987) Les endometrites non spécifiques de la vache. *Thèse Doc., Clermont 2*, 236p.
- Mateus L, Lopes da Costa L, Carvalho H, Serra P, Robalo SJ. (2002) Blood and intrauterine leukocyte profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis. *Reprod. Domest. Anim.*, **37**, 176-180.
- Mee J. (2007) Un nouvel outil pour diagnostiquer l'endométrite. *Point Vet.*, **274**, 14-15.
- Mee J, Dalemans I. (2006) Diagnosis of endometritis in dairy cows using a novel intravaginal scoop (Metricheck®). *Oral communication of the World Buiatrics Congress*. N°OS09. Nice, France, 15-19 Octobre 2006.
- Mestecky J, Moldoveanu Z, Russell MW. (2005) Immunological uniqueness of the genital tract : challenge for vaccine development. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **53**, 208-214.
- Metris A, George SM, Baranyi J. (2006) Use of optical density detection times to assess the effect of acetic acid on single-cell kinetics. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 6674-6679.
- Miller AN. (2009) The effect of *Arcanobacterium pyogenes* in the bovine uterus. *Thèse Doc., Londres*, 128p.
- Noakes DE, Till D, Smith GR. (1989) Bovine uterine flora post partum : a comparison of swabbing and biopsy. *Vet. Rec.*, **124**, 563-564.
- Paisley LG, Mickelsen WD, Anderson PB. (1986) Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows : A review. *Theriogenology*, **25**, 353-381.
- Pavaux C. (1981) Eléments d'anatomie : L'utérus de la vache. *Société Française de buiatrie*, Toulouse, 9-53, 355p.
- Sander AK, Piechotta M, Schiamberger G, Bollwein H, Kaske M, Sipka A, Schuberth HJ. (2011) Ex vivo phagocytic overall performance of neutrophilic granulocytes and the relation to plasma insulin-like growth factor-I concentrations in dairy cows during the transition period. *J. Dairy Sci.*, **94**, 1762-1771.
- Shafer-Weaver KA, Sordillo LM. (1997) Bovine CD8+ suppressor lymphocytes alter immune responsiveness during the post-partum period. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **56**, 53-64.
- Sheldon IM. (2004) The postpartum uterus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, **20**, 569-591.

- Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft A, Dobson H. (2001) Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.*, **148**, 172-175.
- Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. (2002) Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, **123**, 837-845.
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, **65**, 1516-1530.
- Sheldon IM, Price SB, Cronin J, Gilbert RO., Gadsby JE. (2009a) Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.*, 44, 1-9.
- Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. (2009b) Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.*, **81**, 1025-1032.
- Sheldon IM, Rycroft AN, Dogan B, Craven M, Bromfield JJ, Chandler A, Roberts MH, Price SB, Gilbert RO, Simpson KW. (2010) Specific strains of *Escherichia coli* are pathogenic for the endometrium of cattle and cause pelvic inflammatory disease in cattle and mice. *PLoS. One*, **5**, 91-92.
- Simon M. (2009) L'immunité innée [en ligne]. Disponible sur : <http://www.cours-pharmacie.com/immunologie/limmunite-innee.html> (consulté le 05/09/2013).
- Singh J, Murray RD, Mshelia G, Woldehiwet Z. (2008) The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *Vet. J.*, 175, 301-09.
- Skinner JG, Brown R, Roberts L. (1991) Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet. Rec.*, **128**, 149-150.
- Slama H, Vaillancourt D, Goff AK. (1991) Pathophysiology of the puerperal period : relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, **36**, 1071-1092.
- Sugimoto Y, Narumiya S. (2007) Prostaglandin E receptors. *J. Biol. Chem.*, **282**, 11613-11617.

Wathes DC, Cheng Z, Chowdhury W, Fenwick MA, Fitzpatrick R, Morris DG, Patton J, Murphy JJ. (2009) Negative energy balance alters global gene expression and immune responses in the uterus of postpartum dairy cows. *Physiol. Genomics*, **39**, 1-13.

Watson ED, Diehl NK, Evans JF. (1990) Antibody response in the bovine genital tract to intrauterine infusion of *Actinomyces pyogenes*. *Res. in Vet. Sci.*, **48**, 70-75.

Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. (2005) Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, **63**, 102-117.

Williams EJ, Fischer DP., Noakes DE, England GC, Rycroft A, Dobson H, Sheldon IM. (2007) The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, **68**, 549-559.

Williams EJ, Herath S, England GCW, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. (2008) Effect of *Escherichia coli* infection of the bovine uterus from the whole animal to the cell. *Animal*, **2**, 1153-1157.

Wira CR, Fahey JV. (2004) The innate immune system : gatekeeper to the female reproductive tract. *Immunology*, **111**, 13-15.

Wira CR, Grant-Tschudy KS, Crane-Godreau MA. (2005) Epithelial cells in the female reproductive tract : a central role as sentinels of immune protection. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **53**, 65-76.

Young A, Thomson AJ, Ledinghan M, Jordan F, Greer IA, Norman JE. (2002) Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term. *Biol. Reprod.*, **66**, 445-449.

# ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'évaluation de la note d'état corporel.



**Pfizer**  
L'expertise durable

## Note d'état corporel



Santé Animale

**Évaluation de la note d'état**

**Note 1**  
très mauvais état

**Note 2**  
squelette bien visible

**Note 3**  
Squelette et couverture équilibrés

**Note 4**  
Couverture dominante

**Note 5**  
Trop grasse

	Vertèbre lombaire	Section au niveau des hanches	Vue latérale de la ligne entre les os proéminents du bassin	Cavité autour de la queue Vue arrière	Cavité autour de la queue Vue de côté
1					
2					
3					
4					
5					

Scores de condition corporelle (Adapté de A.J. Edmondson, I.J. Lean, C.O. Weaver, T. Farver and G. Webster, 1988. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 72:68-78.)



**1**



**2**



**3**



**4**



**5**





Annexe 2 : Document accompagnant les prélèvements en élevage

Date	Elevage	N° travail vache	Code vache

**Animal :**

Date vêlage	Jours PP	NEC

**Appareil génital :**

- Lavage vaginal :
- Bandelette :
- Note mucus :
- Frottis vaginal :
- Frottis cervical :
- Frottis endométrial :

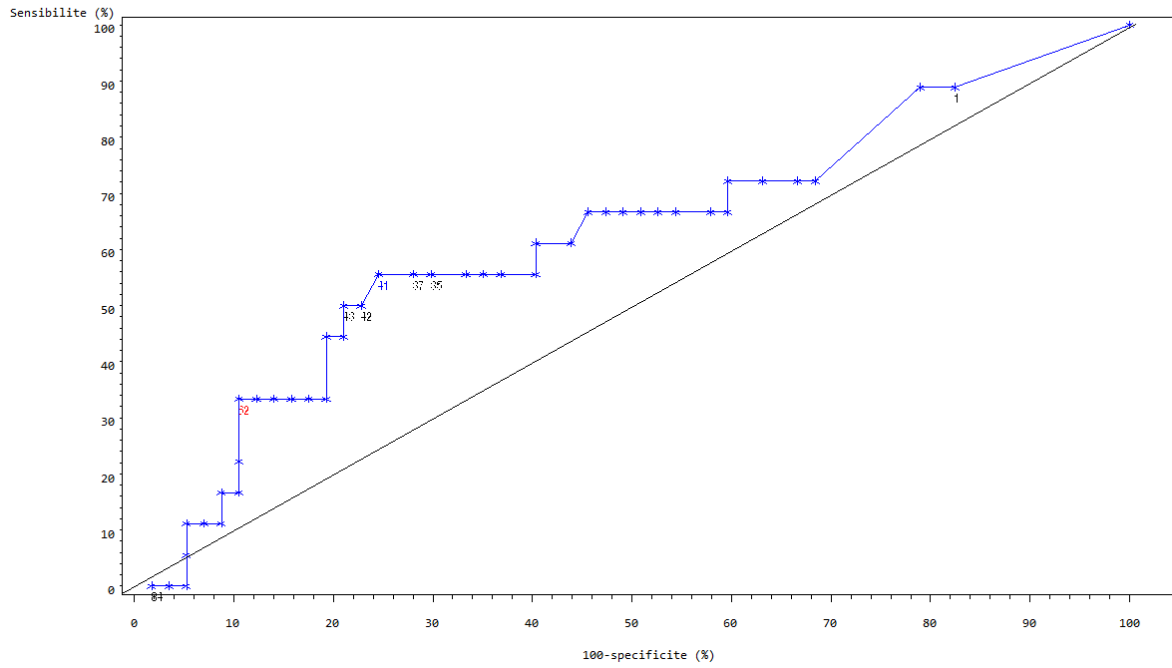
pH	Protéines	Leucocytes

**Retour labo :**

- Centrifugation + congélation :
- Densité optique (résultat) :

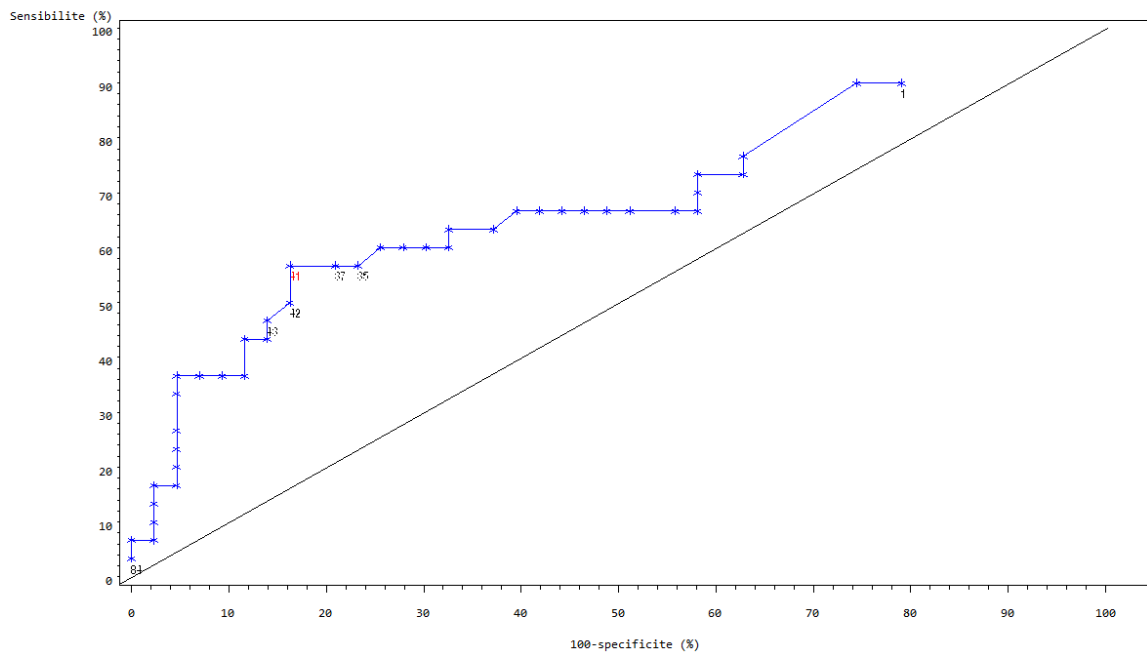
Annexe 3 : Courbe ROC du test "frottis vaginaux" pour la détection d'une cervicite.

REFERENCE = SCOL TEST = NVAGIN



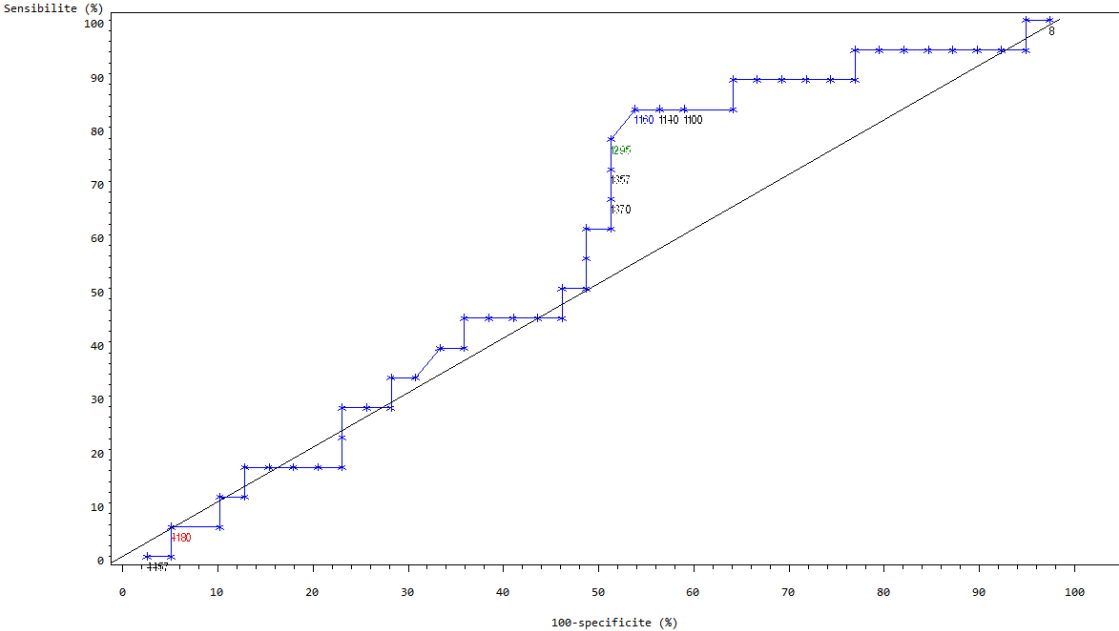
Annexe 4 : Courbe ROC du test "frottis vaginaux" pour la détection d'une inflammation génitale

REFERENCE = STOT TEST = NVAGIN



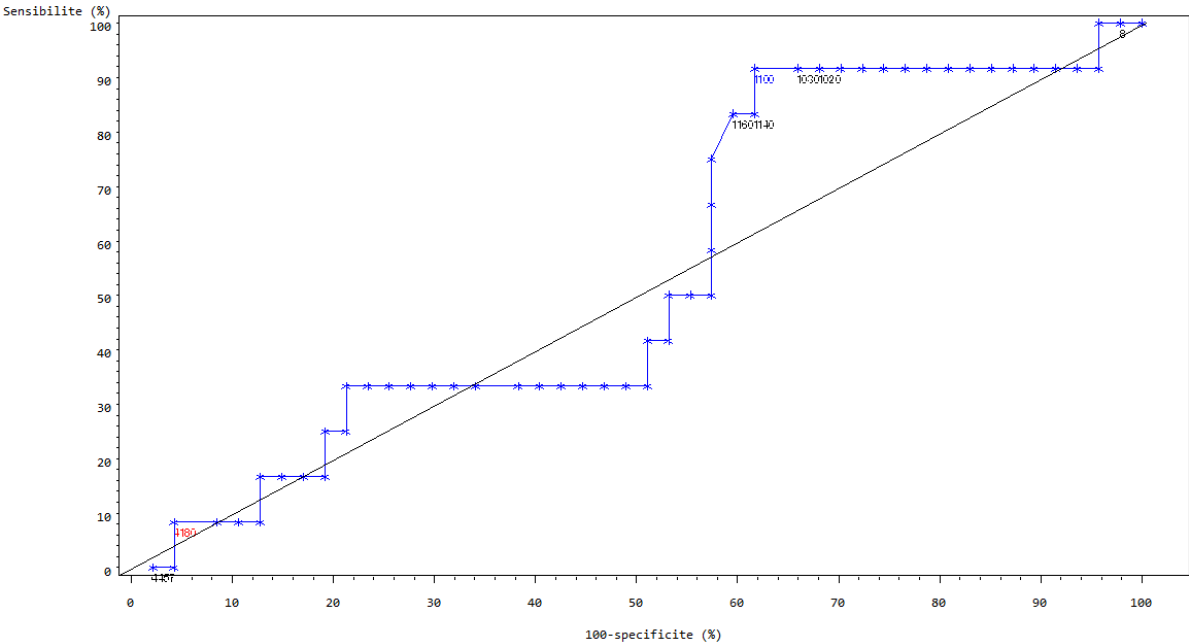
Annexe 5 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal" pour la détection d'une endométrite.

REFERENCE = SUT TEST = DENS



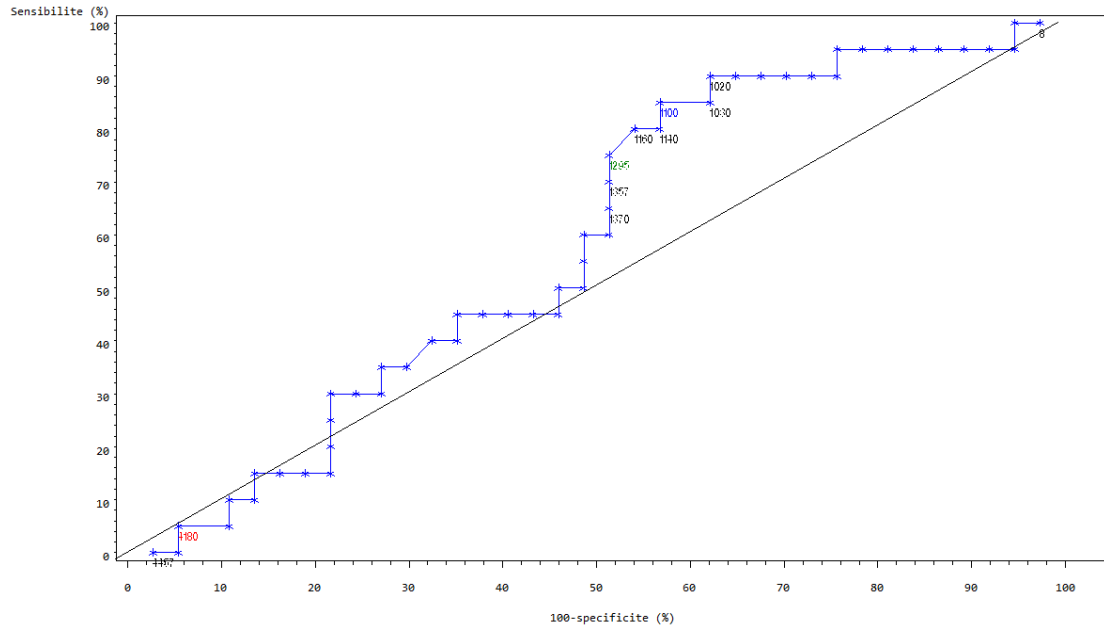
Annexe 6 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal" pour la détection d'une cervicite.

REFERENCE = SCOL TEST = DENS



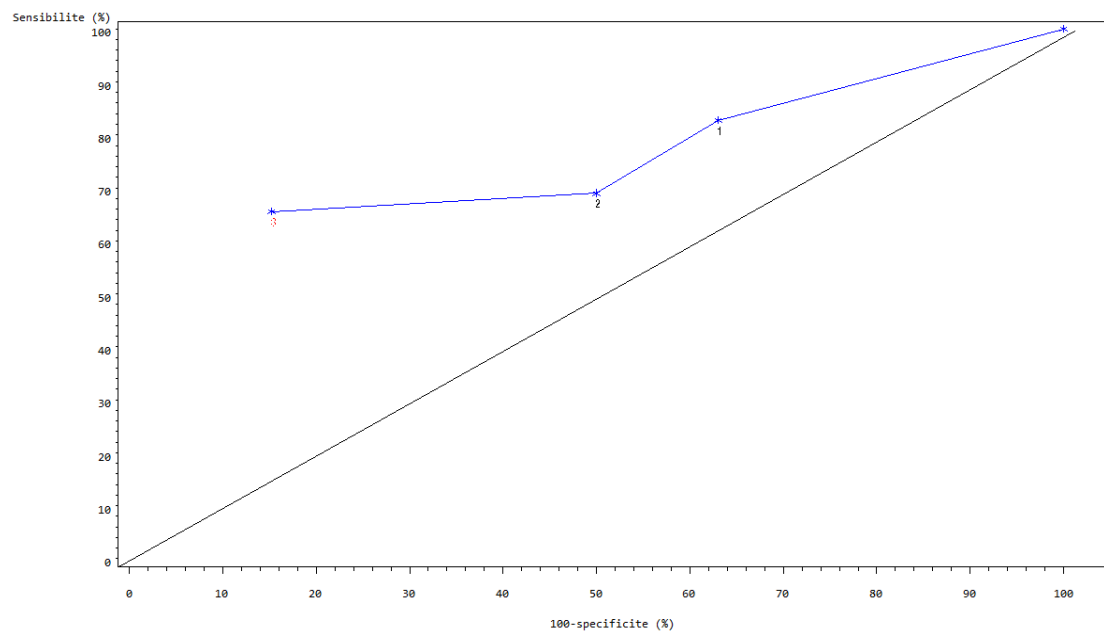
Annexe 7 : Courbe ROC du test "mesure de la densité optique du liquide vaginal"  
pour la détection d'une inflammation génitale.

REFERENCE = STOT TEST = DENS

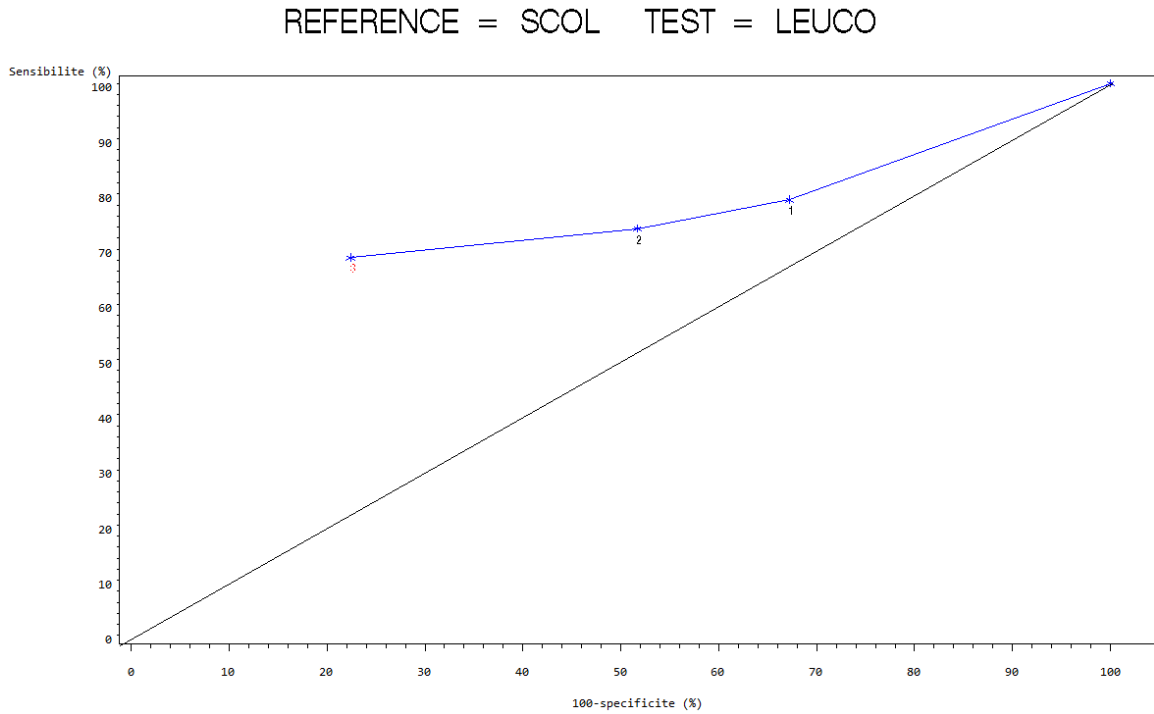


Annexe 8 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal"  
pour la détection d'une endométrite.

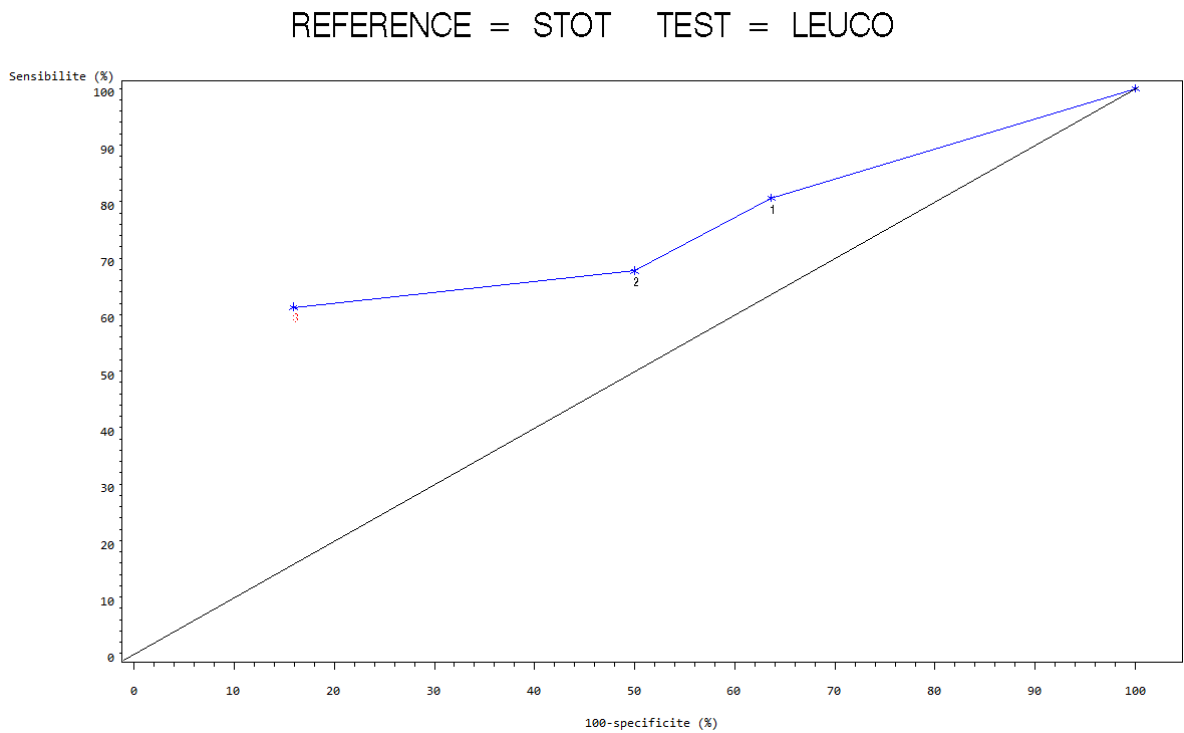
REFERENCE = SUT TEST = LEUCO



Annexe 9 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal" pour la détection d'une cervicite.

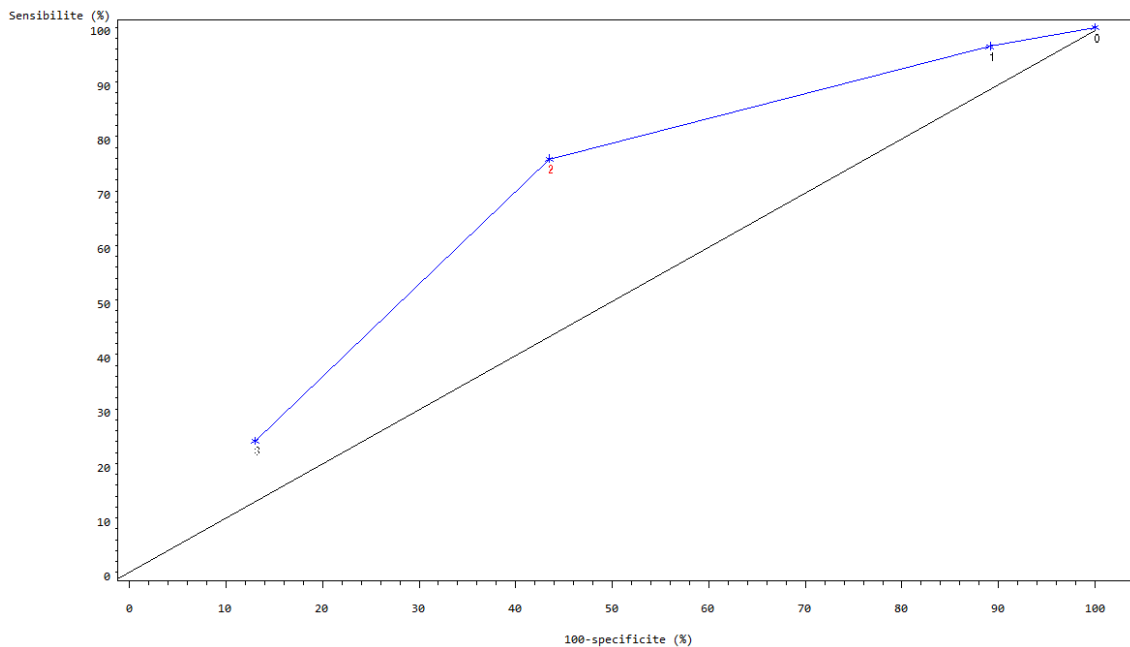


Annexe 10 : Courbe ROC du test "mesure du taux de leucocytes du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale.



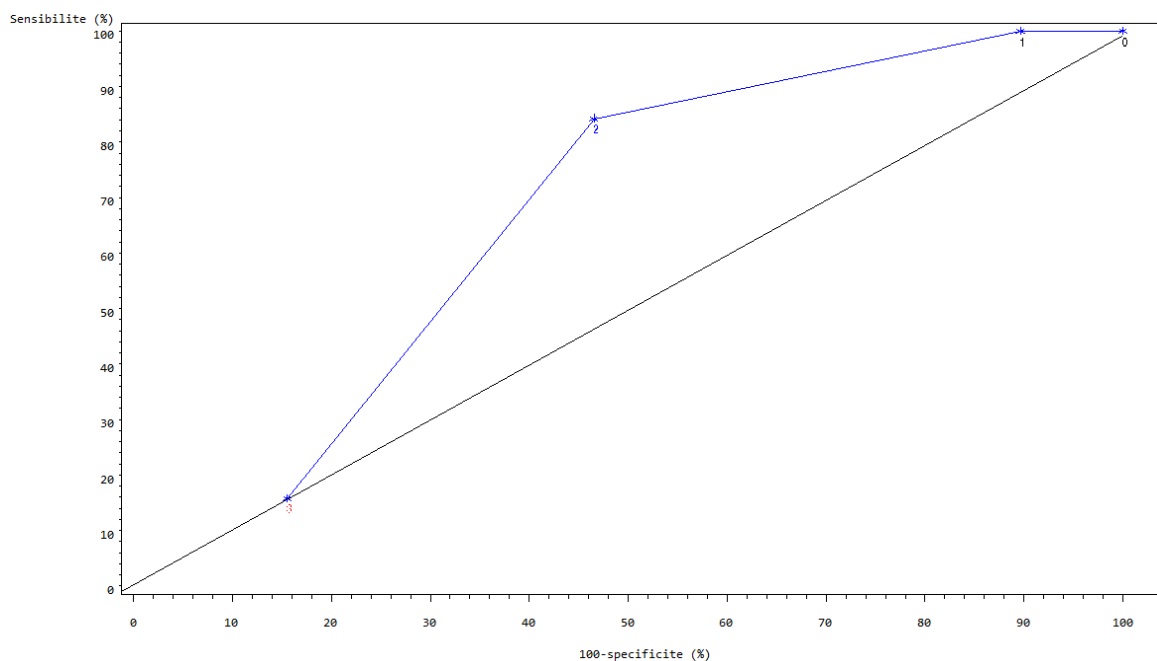
Annexe 11 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation utérine.

REFERENCE = SUT TEST = PROT

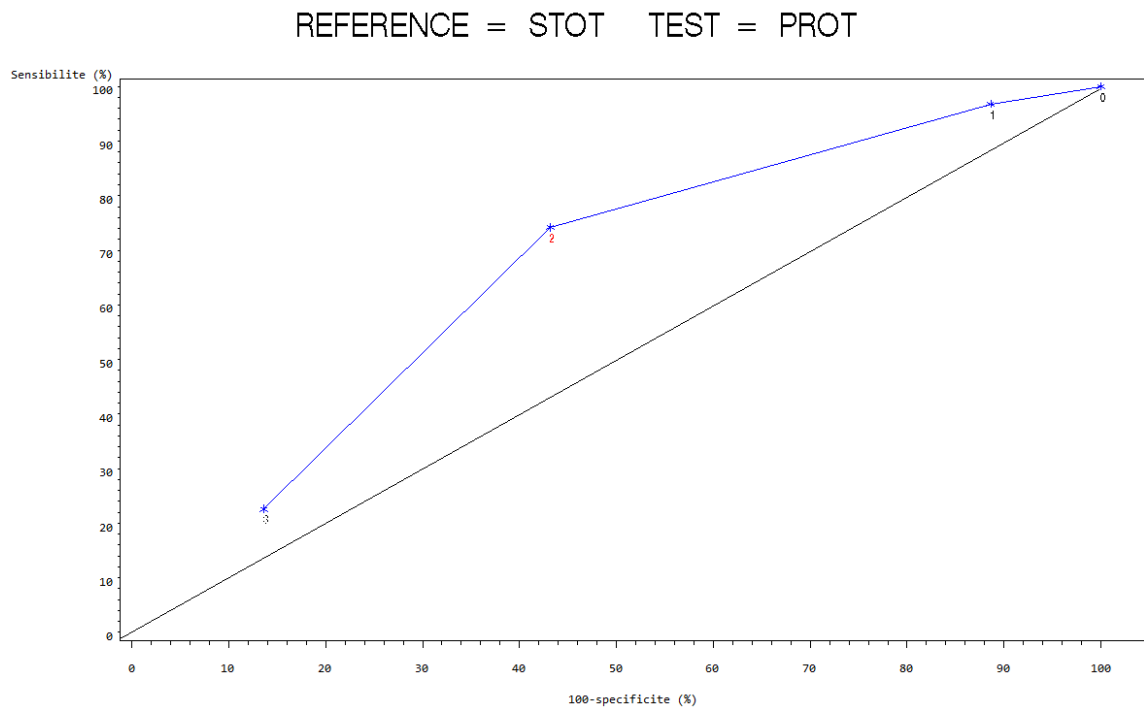


Annexe 12 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation cervicale.

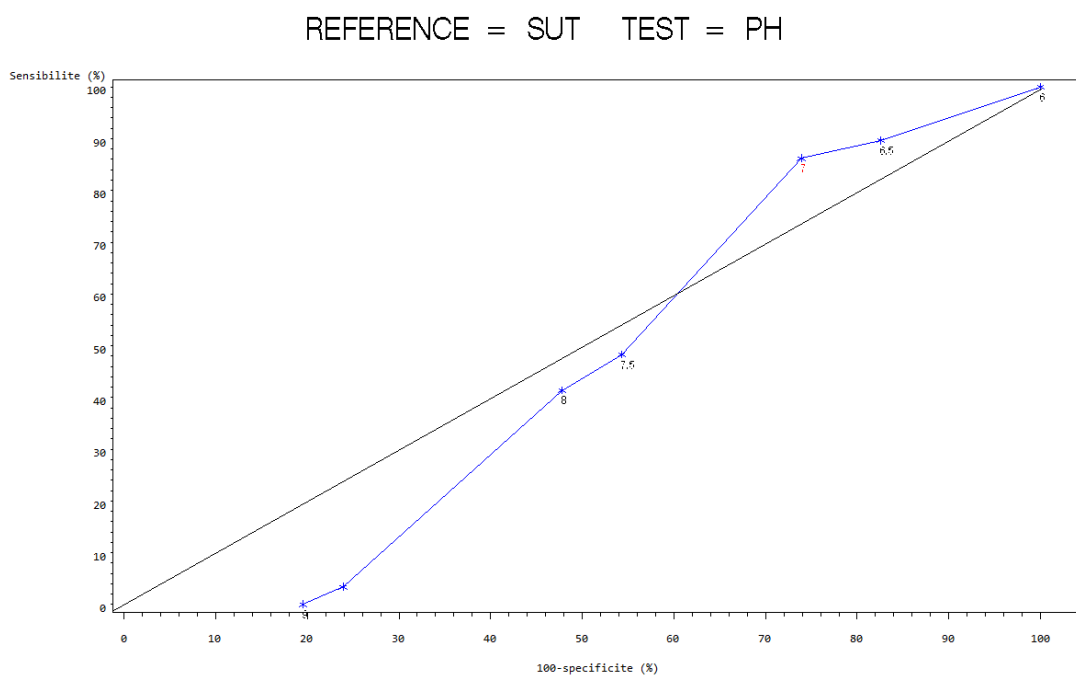
REFERENCE = SCOL TEST = PROT



Annexe 13 : Courbe ROC du test "mesure du taux de protéines du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale.

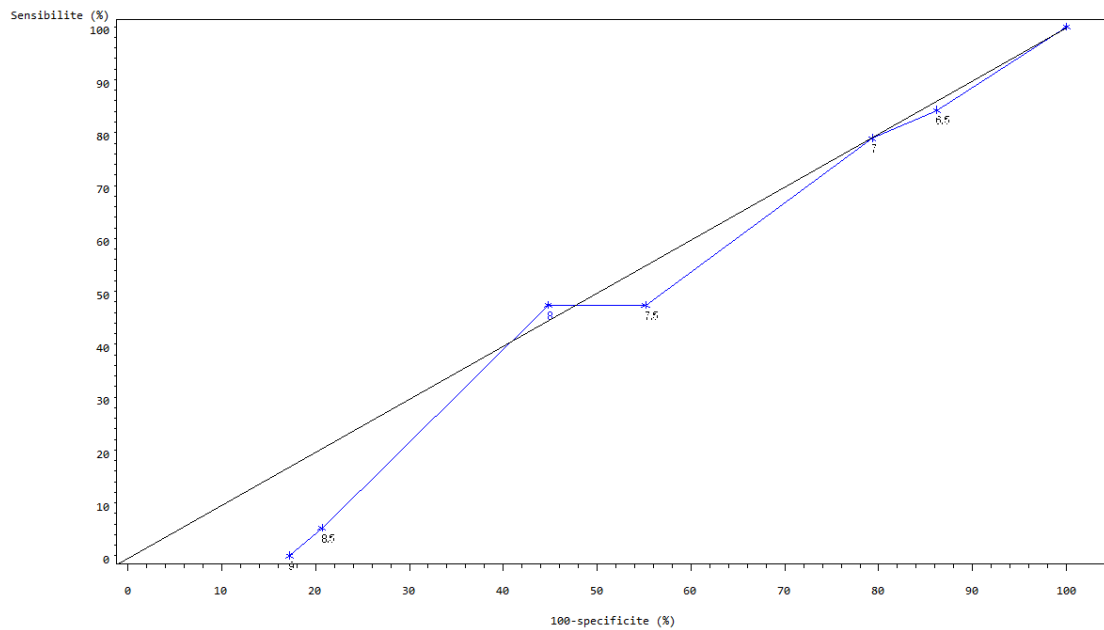


Annexe 14 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation utérine.



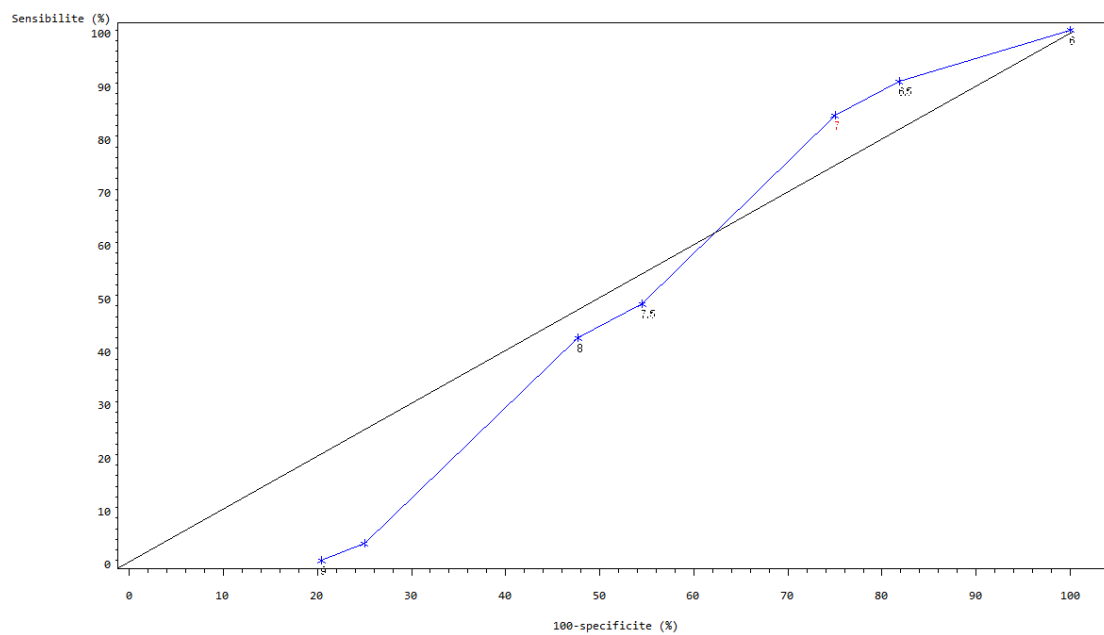
Annexe 15 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation cervicale.

REFERENCE = SCOL TEST = PH



Annexe 16 : Courbe ROC du test "mesure du pH du liquide vaginal" pour la détection d'une inflammation génitale.

REFERENCE = STOT TEST = PH





Toulouse, 2013

NOM : ROUMEGOUS

PRENOM : Martin

TITRE : Évaluation de l'intérêt de méthodes diagnostiques de l'inflammation génitale chez la vache, à partir de prélèvements vaginaux.

RESUME : La santé de l'appareil génital est un des facteurs limitants principaux de la fertilité et de la fécondité de la vache laitière. Un des principaux problèmes consiste à identifier les animaux présentant une inflammation génitale susceptible de diminuer leurs performances de reproduction. L'idée de cette étude était d'utiliser le compartiment vaginal, facilement accessible, pour tenter d'évaluer l'état inflammatoire de l'appareil génital.

80 vaches de race Prim'Holstein ont été prélevées dans l'intervalle 21-35 jours post-partum. L'état inflammatoire de l'utérus et du col étaient déterminés grâce à la cytologie, avec des seuils de, respectivement, 5% et 6% de neutrophiles. Le test le plus fiable (et aussi le plus spécifique) pour la détection des inflammations génitales est la mesure du taux de leucocytes du liquide de lavage vaginal avec un seuil à 3+ sur la bandelette urinaire (Se=61,3% ; Sp=84,1% ; VPP=73,1% ; VPN=75,5%). Le test le plus sensible est la mesure de la densité optique (DO) du mucus vaginal ( $DO \geq 1,16 \cdot 10^9$ ) avec une sensibilité de 85,0%. Bien que l'utérus, le col et le vagin paraissent être trois compartiments bien distincts d'un point de vue inflammatoire, des prélèvements vaginaux ciblés permettent d'améliorer le diagnostic des inflammations génitales.

MOTS-CLES : endométrite, neutrophiles, bandelette, densité optique, cytologie

---

TITLE : Assessment about the interest of cows' genital inflammation diagnostic methods.

ABSTARCT : The health of the genital tract is one of the main limiting factors in dairy cows' fertility and fecundity. One significant issue consists in identifying animals with a genital inflammation which may reduce their reproductive performances. The goal of this study was to use the vaginal compartment, that is easily reached, to estimate the inflammatory state of the genital tract.

80 Prim'Holstein cows have been removed from 21 to 35 days post-partum. Uterus and cervical inflammatory state have been established thanks to cytology, with threshold of, respectively, 5% and 6% of neutrophils. The most reliable test (and the most specific) to detect genital inflammations is the measurement of the leukocyte level in the vagina washings liquid with a threshold of 3+ on urinary stick (Se=61,3% ; Sp=84,1% ; PPV=73,1% ; NPV=75,5%). Measurement of the vaginal mucus optical density ( $OD \geq 1,16 \cdot 10^9$ ) is the most sensitive test with a sensitivity of 85,0%. Although the uterus, the cervical and the vagina seem to be 3 distinct compartments from an inflammatory point of view, accurate vaginal samples help to improve genital inflammation diagnosis.

KEYWORDS : endometritis, neutrophils, urinary sticks, optical density, cytology