

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB -BLIDA 01-



**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES POPULATIONS ET DES
ORGANISMES**

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master en
Biologie**

Option : Reproduction Animale

THEME

*Etude bactériologique d'endométrites en post-partum chez la vache
laitière à l'institut technique d'élevage (Baba-Ali)*

Présenté et soutenu le 09 **Juin 2016** par :

Mlle : MEKDOUR Siham

Devant le jury :

Mme : GUESSAIBIA

MCB (USDB)

Présidente

Mme : BOULKOUR

MCB(USDB) Examinatrice

Mme : ABDUL-HUSSAIN

MCB (USDB)

Promotrice

-Promotion 2016-

Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier le tout puissant Allah de m'avoir donné le courage et la foi pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à mes chers parents.

A mes frères et sœurs qui ont fait preuve de patience à mon égard en particulier Wissem.

A tout ceux qui ont partagé avec moi les longues années d'études et ont créé la joie et la bonne entente :Hadj, Meriem,Oussama,Akram,Luiza,Rym,Amina,Elhadi,Wail, Kahina, djidji.

A toute la promotion 2016 (Reproduction animale) je leur dédie à tous ce travail en signe de ma profonde tendresse et ma sincère amitié.

Sihem

Remerciements

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et mes remerciements à :

-- Mme ABDUL-HUSSAIN, maitre conférence et enseignante à l'université de BLIDA, je tiens à vous remercier pour avoir accepté de me prendre en charge, pour votre disponibilité, votre attention bienveillante et votre aide lors des corrections.

A l'honorable jury,

Je vous remercie d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail.

Qu'il me soit permis d'exprimer ici notre profonde reconnaissance.

A l'ensemble des enseignants du département de Biologie de SAAD DAHLAB qui m'ont suivi tout au long du cursus universitaire.

Je voudrais également remercier le personnel technique de :

- Laboratoire d'hygiène de Blida en particulier Mr TEFFAHI Djamal je suis très reconnaissante pour votre accueil et pour les connaissances que vous m'avez transmises lors de mon stage.
- ITELV pour les docteurs vétérinaires, Mr et Mme NADJEMI merci de m'avoir fourni toutes les informations qui m'ont servi dans ce travail, je vous prie de trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.
- Dr HADJ HENNI médecin généraliste, je tiens à vous remercier pour collaborations et conseils.

Un grand merci à toute les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, ainsi tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu.

Chapitre I : Partie Bibliographique

Chapitre II : Partie Expérimentale

Partie 1 : Matériel et Méthodes

Partie 2 : Résultats et Discussions

Introduction

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Description des phases du cycle œstral de la vache	07
Tableau II : Etats de l'utérus en postpartum	08
Tableau III : Fréquence (%) d'isolement de germes chez des vaches à endométrites	17
Tableau IV : Classification des bactéries, isolées par culture aéro et anaérobie, selon leur pouvoir pathogène, dans le cadre des endométrites de la vache	17
Tableau V : Répartition des prélèvements selon le délai post-partum	20
Tableau VI : Caractéristiques des vaches laitières prise dans l'étude	21
Tableau VII : Nombre de gestations pour toute les vaches de l'étude	30
Tableau VIII : Nombre d'inséminations artificielles de toutes les vaches	31
Tableau IX : Les caractères biochimiques des entérobactéries et <i>Pseudomonas</i>	36
Tableau X : Résistance d' <i>E. Coli</i> aux antibiotiques	41
Tableau XI : Résistance des <i>Bacillus</i> aux antibiotiques	42
Tableau XII : Résistance de <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Pseudomonas</i> aux antibiotiques	43
Tableau XIII : Résistance des <i>Staphylocoques</i> aux antibiotiques	44
Tableau XIV : Résistance des <i>Streptocoques</i> aux antibiotiques	45
Tableau XV : Répartition de la présence des endométrites en post-partum	46
Tableau XVI : Répartition des prélèvements positifs selon le nombre de souches isolées	47
Tableau XVII : Répartition des bactéries responsables d'endométrites	47
Tableau XVIII: Répartition des bactéries isolées selon le délai post-partum	51

Liste des figures

Figure 1 : Appareil reproducteurs de la vache	02
Figure 2 : Anatomie du tractus génital de la vache	04
Figure 3: Notions de fertilité et de fécondité appliquées en élevage bovin laitier	18
Figure 4 :Répartition de la présence des endométrites en post-partum	46
Figure 5 : Fréquence d'isolement des bactéries selon le nombre total des espèces	48
Figure 6 : Fréquence d'isolement des bactéries selon le nombre total des prélèvements positifs	49
Figure 7 : Répartition des prélèvements positifs selon le délai post-partum	50
Figure 8 : Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées pendant les premières 24 heures	52
Figure 9 : Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées entre 21 et 60 jours post-partum	53

Liste des abréviations

A.D.H : Arginine dihydrolase

CIT : Citrate de sodium

GEL : Gélatine de kohn

IA : insémination artificielle

IF : insémination fécondante

IND : Indole

IVV : intervalle vêlage-vêlage

L.D.O : Lysine décarboxylase

MH : Mueller-Hinton

O.D.C : OrnithineDécarboxylase

ONPG : Ortho-Nitro-Phenyl-Galactopyranoside

RM : Rouge de méthyle

TDA : Tryptophane désaminase

TSI : Triple SugarIron

URE : Urée

V : vêlage

VP : VogsProakauer

Sommaire

Introduction	01
<u>Chapitre I : Partie bibliographique</u>	
I.1. Rappel anatomique	02
I.1.1. Appareil reproducteur	02
I.1.1.1. Ovaire	02
I.1.1.2. Tractus génital	03
I.1.2. Appareil génital femelle	04
I.2. Structure histologique du tractus génital	05
I.3. Rappel physiologique	06
I.4. Etats de l'utérus en postpartum	08
I.5. Physiopathologie	09
I.5.1. Classification des inflammations utérines et leurs symptômes	09
I.5.1.1. Localisation tissulaire de l'inflammation	09
I.5.1.2. Délai d'apparition par rapport au vêlage	10
I.5.2. Prévalence et impact des endométrites	11
I.6. Facteurs de risque	11
I.7. Diagnostic clinique	12
I.7.1. Examen clinique	12
I.7.2. Examen paraclinique	12
I.7.2.1. Méthodes d'analyses du laboratoire	12
I.7.2.2. Intérêt diagnostique de l'examen bactériologique	16
I.7.2.3. Les différents pathogènes impliqués	16
I.9. Conséquences des endométrites	18
I.9.1. fertilité et objectifs de reproduction en élevage laitier	18
I.9.1.1. Notion de fertilité : application en élevage bovin laitier	18

I.9.1.2. Paramètres de fécondité	18
I.9.1.3. Paramètres de fertilité	19
I.9.2. Altération de la fertilité et de la fécondité	19

Chapitre II : Partie expérimentale

Partie 1 : Matériel et Méthodes

II.1. Objectifs	20
II.2. Cadre de l'étude	20
II.3. Population étudiée	20
II.4. Description des échantillons	20
II.4.1. Répartition des prélèvements selon le délai post-partum	20
II.4.2. Caractéristiques des vaches incluses dans l'étude	21
II.6. Matériels	21
II.7. Méthodes	22
II.7.1. Prélèvement des échantillons	22
II.7.2. Analyses du laboratoire	22

Partie 2 : Résultats et Discussions

II.1. fertilité en élevage bovin laitier	29
II.1.1. Paramètres de fécondité	29
II.1.2. Paramètres de fertilité	30
II.2. Résultats bactériologiques	31
II.2.1. Identification des bactéries	31
II.2.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques	41
II.3. Résultats épidémiologiques	46
II.3.1. Taux de positivité des prélèvements	46
III.3.2. Répartition des prélèvements selon le nombre des souches isolées	46

II.3.3. Répartition des bactéries responsables d'endométrites	47
II.3.4. Répartition des prélèvements positifs selon le délai post-partum	50
II.3.5. Répartition des bactéries isolées selon le délai post-partum	50
II.3.5.1. Répartition des bactéries isolées pendant les premières 24 heures	52
II.3.5.2. Répartition des bactéries isolées entre 21 et 60 jours post-partum	53
Conclusion	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Résumé

Les bovins se distinguent des autres espèces de mammifères par une contamination microbienne inévitable de l'utérus au moment du vêlage, à l'origine d'une mobilisation de l'immunité génitale de l'animal. Cependant, alors que l'inflammation utérine post-partum est systématique et physiologique, sa persistance au-delà de 21 jours post-partum (JPP) devient pathologique. Le but de ce travail était de décrire chez la vache laitière, l'inflammation utérine post-partum, physiologique et pathologique, en utilisant l'examen bactériologique comme technique de référence.

Les endométrites bactériennes sont caractérisées par leur fréquence élevée mais, si une antibiothérapie est instaurée elle doit être rapide, d'où l'utilité de connaître l'évolution des bactéries pathogènes à savoir leurs profils antibiotiques.

Le but de notre travail est l'étude des endométrites d'origine bactérienne chez les vaches laitières en post-partum.

Dans notre travail les analyses se sont déroulées au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire d'hygiène de Blida, du Décembre 2015 au Mai 2016, où 30 prélèvements de dix vaches laitières dans les premières 24 heures post-partum et entre 21 et 60 jours post-partum, ont été effectués dans l'institut technique des élevages de Baba-Ali.

Une analyse bactériologique standard a été réalisée pour tous les prélèvements à savoir culture, enrichissement, et identification biochimique, ainsi qu'un antibiogramme.

Les résultats de l'étude ont permis de constater que 100% de cas étaient positifs dans les premières 24 heures qui suivent le vêlage et 80% de cas étaient positifs entre 21 et 60 jours post-partum.

Les bactéries isolées étaient respectivement 48,57% de *E. Coli*, 8,5% pour *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus ahymolitique*, et *Streptococcus β hémolytique*, 6% de *Bacillus* et *Pseudomonas*, et 3% pour *Proteus mirabilis*, et *Serratia*.

Les profils antibiotiques obtenus ont permis de relever des résistances élevées à certains antibiotiques comme : AMPICILLINE, AMOXICILLINE.

Mots-clés : analyses bactériologiques ; bactéries ; bovin ; endométrites bactériennes ; post-partum ; profils antibiotiques.

ملخص

تتميز الابقار عن الأنواع الأخرى من الثدييات انه لا مفر من التلوث الميكروبي عند الولادة ، مما يحدث تعبئة في الحصانة التناسلية للحيوان .و في حين أن التهاب الرحم في ما بعد الولادة هو مرحلة منهجية و الفسيولوجية ، فان استمراره لمدة 21 يوم يصبح مرضيا . وكان الهدف من هذه الدراسة هو وصف هذا النوع من الالتهاب عند الابقار الحلوب و ذلك باستعمال تقنيات الفحص البكتريولوجي وذلك كتقنية المرجع التقني

يتميز التهاب بطانة الرحم البكتيري بالظهور في احيان كثيرة ، والعلاج بالمضادات الحيوية يجب أن يكون سريعا ، تفهم وبالتالي الحاجة إلى معرفة تطور البكتيريا المسببة للأمراض وخصائصها

والهدف من عملنا هو دراسة التهاب بطانة الرحم البكتيري في الأبقار بعد الولادة

تحليلات عملنا أجريت في وحدة مختبر علم الجراثيم و النظافة البلدية ، من ديسمبر 2015 إلى مايو 2016 ، والذي شمل 30 عينة من عشرة أبقار البان في أول 24 ساعة بعد الولادة، و بين 21 و 60 يوما بعد الولادة على مستوى المعهد التقني لمزارع بابا علي

تم إجراء تحليل البكتريولوجي موحد لجميع العينات أي زراعة ، والإثراء ، والتحديد الكيميائي و المضادات

بينت نتائج الدراسة أن 100 ٪ من الحالات كانت إيجابية في ال 24 ساعة الأولى بعد الولادة ، وكانت 80 ٪ من الحالات الإيجابية بين 21 و 60 يوما بعد الولادة

وكانت البكتيريا المعزولة 48.57 ٪ من *شريشيا-كولاي* ، 8.5 ٪ *للمكورات العنقودية البشرية* ، *المكورات العنقودية والانحلالية العقدية* ، و 6 ٪ *بكتيريا عصوية* ، و 3 ٪ *للمتقلبة الرائعة* ، *السرانية*

حددت مقاومة عالية لبعض المضادات الحيوية مثل : *الأمبيسلين* ، *أموكسيسيلين*

كلمات البحث: تحليل البكتريولوجي . البكتيريا . الابقار . التهاب بطانة الرحم البكتيري بعد الولادة . المضادات الحيوية الشخصية

Abstract

Cattle are distinguished from other species of mammals by an inevitable microbial contamination of the uterus at calving time, due to a mobilization of genital immunity of the animal. However, the uterine inflammation postpartum is systematic and physiological, while its persistence beyond 21 days postpartum becomes pathological. The aim of this study was to describe in dairy cows, the uterine inflammation postpartum, physiological and pathological, by using the bacteriological examination as a reference method.

Bacterial endometritis are characterized by their high frequency, but if antibiotic therapy is instituted it must be fast, hence the need to know the evolution of pathogenic bacteria that is their profiles antibiotic.

The aim of our work is the study of bacterial endometritis in dairy cows postpartum.

In our work analyzes were conducted at the unit of bacteriology laboratory of hygiene Blida, from December 2015 to May 2016, in which 30 samples of ten dairy cows in the first 24 hours postpartum and between 21 and 60 days postpartum, were made in the technical Institute of Baba-Ali farms.

A standard bacteriological analysis was performed for all samples that is culture, enrichment, and biochemical identification and an antibiogram.

The results of the study found that 100% of cases were positive in the first 24 hours after calving and 80% of cases were positive between 21 and 60 days postpartum.

The Isolated Bacteria were respectively 48.57% of *E. coli*, 8.5% for *Staphylococcusepidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus ahemolytic* and β hemolytic *Streptococcus*, 6% of *Bacillus* and *Pseudomonas*, and 3% for *Proteus mirabilis*, and *Serratia*.

The profiles antibiotics obtained have identified high resistance to certain antibiotics: AMPICILLINE, AMOXICILLINE

Keywords: bacteriological analysis; bacteria; cattle; bacterial endometritis; post-partum ; Antibiotics profiles.

Introduction

La période post-partum est considérée comme particulièrement importante dans la viereproductive en raison de ses conséquences sur l'efficacité de la reproduction (involution utérine, Démarrage de l'activité ovarienne, fertilité). L'intégrité utérine en particulier est souvent altérée chez les vaches en raison de la contamination bactérienne qui est quasi systématique peu après le vêlage.

La fertilité et la fécondité des bovins laitiers ont été fortement dégradées depuis 30 ans. Cette détérioration est observée dans le monde entier (**Dobson *et al.*, 2007; Le Mézec *et al.*, 2008**).

En effet, des bactéries peuvent être isolées chez plus de 90% de vaches dans les deux premières semaines post-partum (**Paisley *et al.*, 1986**).

La plupart des animaux éliminent ces germes au cours des cinq semaines qui suivent le vêlage, mais la persistance de ces bactéries est à l'origine d'une infection de l'utérus, diagnostiquée lors de l'examen général de l'animal (**LeBlanc *et al.*, 2002**).

Cette contamination est à l'origine d'une inflammation de l'utérus, de lésions histologiques de l'endomètre, de retards aux involutions utérines et d'une diminution des performances de reproduction. Les infections utérines sont associées à des taux de fécondation diminués, à une augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage et à une diminution du taux de réussite à la première insémination artificielle.

Dans la pratique, on distingue deux formes d'infections utérines: les métrites puerpérales et les métrites chroniques ou endométrites (**Fourichon *et al.*, 2004; Leblanc *et al.*, 2006**).

En Algérie peu d'informations sont disponibles concernant les endométrites du post-partum, il parait donc utile de réaliser plusieurs études pour, une part, cerner le rôle exact des endométrites dans les problèmes de reproduction et, d'autre part, permettre une meilleure prise en charge des vaches malades.

C'est dans ce contexte que vient s'inscrire le présent travail, visant l'aspect bactériologique des métrites du post-partum.

Partie bibliographique

La reproduction est une fonction capitale en élevage bovin. Le vêlage déclenche la lactation. En plus d'être la base des productions bovines, la reproduction est également un témoin de la santé générale de l'élevage. Les performances de reproduction sont en effet souvent les premières affectées par une perturbation ou une erreur de la conduite d'élevage.

I.1 Rappel anatomique

I.1.1. Appareil reproducteur

L'appareil reproducteur femelle comprend :

- _ Deux gonades ou ovaires ayant une double fonction, l'élaboration des gamètes femelles et la synthèse d'hormones femelles;
 - _ Des voies génitales : lieu de fécondation, organe de gestation, organes d'accouplement.
- (Batellier *et al.*, 2005).

Les schémas de la figure 1 présentent l'appareil génital de la vache

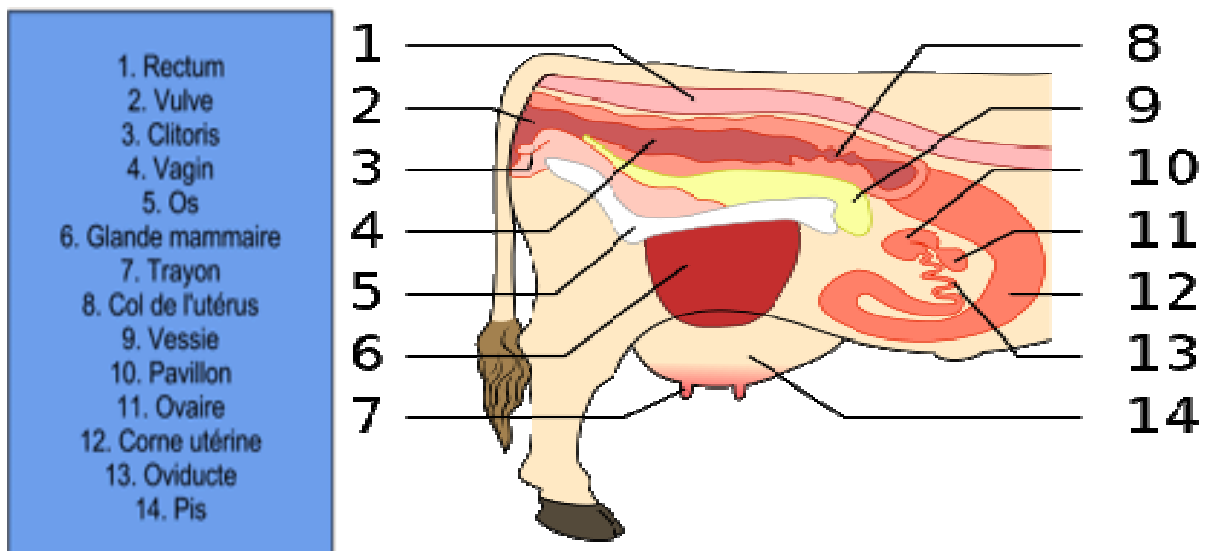


Figure 1 : Appareil reproducteurs de la vache (Batellier *et al.*, 2005)

I.1.1.1. Ovaire

Est la glande génitale de la femelle. C'est un organe pair, appendu à la région lombaire et pourvu d'une double fonction : gamétogénèse, assurant l'ovogénèse, et endocrine, commandant (sous le contrôle de l'hypophyse) toute l'activité génitale par la sécrétion des hormones œstrogènes et progestatives (Barone, 1978).

Chez la vache, ils sont petits, ovoïdes, de taille variable selon l'âge et le stade du cycle œstral

(Derivaux et Ectors, 1985), chaque ovaire à la forme d'une amande de 4 cm de longueur sur 2.5 cm de largeur et 1.5 cm d'épaisseur (Christian Dudouet, 2010). De consistance ferme, leur forme est irrégulièrement bosselée par les structures telles que follicules à divers degrés de développement et corps jaunes. La coupe de l'ovaire permet d'observer ces organites spécifiques qui correspondent à l'évolution depuis le follicule primordial jusqu'au follicule mûr qui produira l'ovocyte. Après ovulation, ce follicule va se transformer en corps jaune qui régressera plus ou moins rapidement en fonction de la fécondation ou non fécondation (Derivaux et Ectors, 1985).

I.1.1.2. Tractus génital

I.1.1.2.1. Oviducte ou trompe utérine

C'est un conduit qui a pour rôle de recueillir l'ovule et de le conduire après fécondation vers l'utérus. À chaque ovaire correspond un oviducte plus ou moins flexueux, situé sur le bord du ligament large. Il débute par le pavillon ou infundibulum indépendant de l'ovaire, qui a la forme d'un entonnoir s'ouvrant dans la bourse ovarique, et pouvant s'appliquer contre le bord libre de l'ovaire pour recueillir le ou les gamètes femelles lors de l'ovulation.

Le conduit lui-même comprend trois partis :

- L'ampoule, où a lieu la fécondation, rencontre et fusion de l'ovule et du spermatozoïde ;
- L'isthme de calibre réduit ;
- La jonction utéro-tubaire, zone de jonction de l'oviducte et de la corne utérine correspondante (Batellier *et al.*, 2005).

De plus, l'oviducte possède une grande variabilité en longueur selon les espèces. Chez le bovin, il mesure approximativement de 21 à 28 cm de longueur (Ellington, 1991).

I.1.1.2.2. Utérus ou matrice

Organe de la gestation, il comprend trois parties chez tous les ongulés :

- Deux cornes qui fusionnent sur une plus ou moins grande longueur pour former le corps de l'utérus;
- Les cornes et le corps de l'utérus, qui sont toujours situés dans l'abdomen sur le bord du ligament large;
- Le col ou le cervix, qui est situé sur le plancher de la cavité pelvienne (Batellier *et al.*, 2005).

I.1.1.2.3. Col de l'utérus

Le col de l'utérus ou cervix est peu discernable en surface. A peine est-il un peu étroit que les parties qu'il sépare, ou seulement délimité par des contractions minimales. Il est en général plus cylindroïde que le corps utérin et la grande épaisseur de sa paroi permet de reconnaître sans peine à la palpation (Barone, 1978).

I.1.1.2.4. Vagin

C'est un conduit impair et médian. Entièrement logé dans la cavité pelvienne, il est en quelque sorte annexé au sinus uro-génital pour constituer avec lui l'organe copulateur de la femelle (Barone, 1978). C'est l'endroit où la semence est déposée lors de la saillie (Baril *et al.*, 1993).

I.1.1.2.5. Sinus uro-génital

Partie commune aux appareils urinaires et génitaux. Il est divisible en deux segments différents par la topographie et la structure : vestibule du vagin et la vulve et le clitoris.

Le vestibule du vagin est conduit large et impair, dans l'extrémité crâniale duquel s'ouvrent l'ostium vaginal et l'ostium externe de l'urètre, tandis que la partie opposée communique avec l'extérieur par la fente de la vulve.

La vulve est la partie externe de l'appareil génitale femelle. Elle occupe la partie ventrale du périnée. Elle est constituée par deux lèvres qui délimitent la fente vulvaire. Les deux lèvres de la vulve se raccordent sur deux commissures dorsales et ventrales (Barone, 1978).

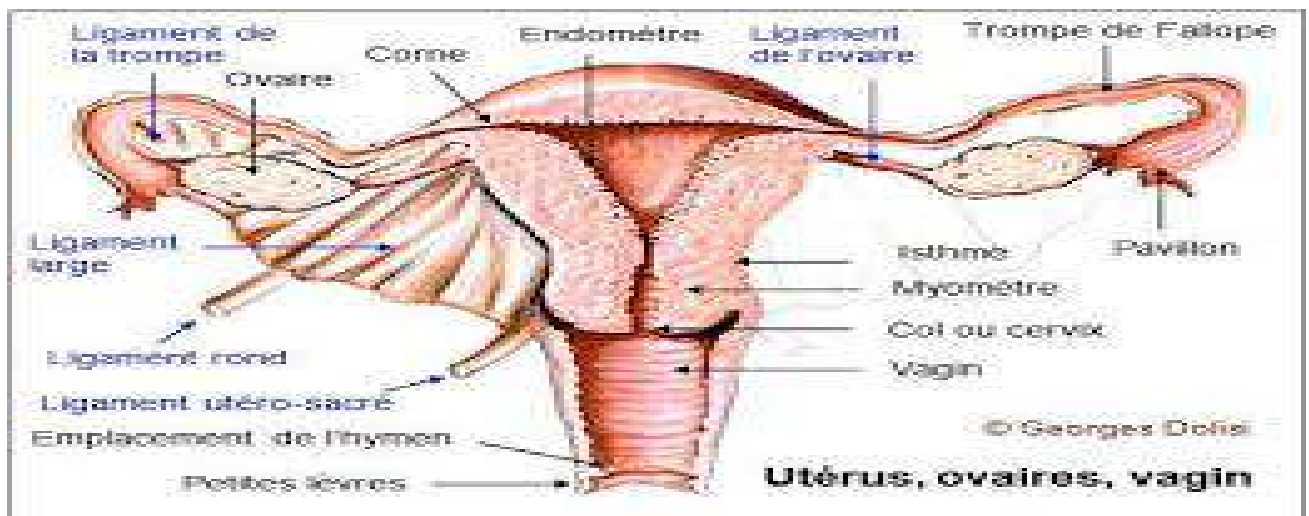


Figure 2 : Anatomie du tractus génital de la vache (Parker et Mathis, 2003)

I.1.2. Appareil génital femelle

En progressant de l'extérieur vers l'avant de la vache, l'appareil génital femelle est constitué de la vulve, du vagin, du col utérin, de l'utérus et des ovaires. L'ensemble est situé dans le bassin, ou immédiatement en avant. Au-dessous de l'appareil génital, se trouve la vessie ; au-dessus le rectum

La vulve est externe, elle est constituée de deux lèvres symétriques, séparées par une fente bien verticale, d'une dizaine de centimètres de hauteur. Le vagin est horizontal, situé un peu plus haut que la vulve ; il est très long (une trentaine de centimètres).

Au bout de celui-ci, se situe le col utérin.

Son orifice externe est entouré de plis qui le rendent difficile à trouver (lors d'insémination ou de cathétérisme du col pour administration d'antibiotiques intra-utérins). Le col est ensuite constitué de trois anneaux concentriques, sur une longueur d'environ

10 centimètres. On atteint alors l'utérus lui-même, avec d'abord le corps utérin (partie commune des deux cornes), très court (4-5 centimètres). Puis les deux cornes utérines, d'un diamètre de l'ordre de 4 centimètres pour 20-30 centimètres de longueur, s'enroulent sur elles-mêmes, donnant à l'utérus sa forme caractéristique en « cornes de bélier ». À l'extrémité de chaque corne, se trouve l'oviducte (trompe utérine, qui n'est pas normalement palpable), puis un ovaire. L'ovaire a une forme d'amande, et ses dimensions sont très variables selon

l'état physiologique ou pathologique de l'animal (de la taille d'un petit pois à celui d'un pamplemousse). En moyenne, sa longueur est de 4 cm pour 2 centimètres d'épaisseur.

L'ovaire est responsable de la production des hormones régulant le cycle (œstrogènes, progestérone) et de la production de l'ovocyte (gamète femelle); l'oviducte capte l'ovocyte après l'ovulation.

Le sperme est déposé par le taureau dans le vagin et par l'inséminateur, dans l'utérus, immédiatement après le col. La fécondation a lieu dans l'oviducte.

L'embryon ainsi formé descend dans l'utérus, où il se développe. Lors de la naissance, le veau franchira le col utérin et passera par le vagin. (Hanzen, 2009).

I.2. Structure histologique du tractus génital

La paroi utérine comporte trois tuniques ainsi disposées de la lumière vers la périphérie: une muqueuse ou endomètre, une musculieuse ou myomètre, et une séreuse ou périmètre (Banks, 1993).

- **Séreuse ou périmètre**

Sa structure est identique à celle de la séreuse de l'oviducte. En revanche, elle comporte quelques cellules musculaires lisses et peut être considérée comme l'expansion des ligaments larges qui soutiennent l'utérus dans la cavité abdominale (Priedkalns et Leiser, 1998; Vaissaire, 1977).

- **Musculaire ou myomètre**

La musculieuse est composée de deux couches concentriques de cellules musculaires lisses : une couche profonde interne, la plus épaisse, composée de fibres musculaires lisses circulaires qui sont particulièrement renforcées au niveau du col, et une couche superficielle externe constituée de faisceaux de fibres musculaires lisses longitudinales qui augmentent en nombre et en taille au cours de la gestation. Une couche vasculaire est intercalée entre ces deux couches musculaires. Elle comporte un important plexus vasculaire et lymphatique, des faisceaux de fibres élastiques et de fibres nerveuses (Priedkalns et Leiser, 1998).

L'ensemble du myomètre se montre sensible aux actions hormonales. Son épaisseur s'accroît sous l'influence des œstrogènes ; elle se réduit après la castration. Le nombre et le volume des fibres lisses augmentent beaucoup pendant la gestation. Les contractions de cette musculature interviennent pour répartir les conceptus dans les espèces où ils sont multiples.

Elles déterminent aussi leur expulsion lors de la parturition. On leur attribue d'autre part un rôle dans l'ascension des spermatozoïdes : pendant la copulation, elles resserrent le cavum utérin et en expulsent le mucus ; le relâchement qui se produit aussitôt après entraîne l'aspiration du contenu vaginal (Barone, 1978).

- **Muqueuse ou endomètre**

L'endomètre est désigné la muqueuse qui tapisse le corps et les cornes utérines. Cette muqueuse comporte un épithélium de surface et un stroma, séparés par une mince membrane basale, la *lamina propria* (Deletang, 2004).

- **Epithélium** est colonnaire, en général simple ; il peut être cubique dans les périodes d'anoestrus ou dioestrus. Dans les ruminants il est pseudo-stratifié par endroits. Il est séparé du chorion sous-jacent par une épaisse membrane basale appelée *lamina propia* (Deletang, 2004).

Il comporte deux types de cellules irrégulièrement mêlée, les unes ciliées, pourvues d'un noyau ovalaire ou sphéroïde, les autres non ciliées, de type sécrétoire et à noyau plus étroit et allongé. La proportion des deux types varie selon les endroits et les périodes, comme dans la trompe utérine. On peut noter que les cellules ciliées sont très peu nombreuses jusqu'à la puberté, plus abondantes chez l'adulte et qu'elles se raréfient dans l'œstrus et le métoestrus (Barone, 1978).

- **Stroma endométrial** est épais. Il comprend trois éléments principaux : des fibres de collagène, des cellules en provenance du sang (lymphocytes, granulocytes, plasmocytes) et des glandes utérines. Ces glandes sont tubulaires, bordées par un épithélium simple en continuité avec l'épithélium de surface mais dont les cellules ont une activité sécrétrice supérieure (Derivaux, 1981).

- **Glandes utérines** sont tubulaires, simples ou peu ramifiées et leur épithélium est semblable à celui de la surface endométriale. Elles sont à peine ébauchées chez le nouveau-né, où elles sont représentées par de simples et courtes invaginations de l'épithélium superficiel dans un stroma encore presque entièrement cellulaire. Elles deviennent plus profondes et flexueuses à l'approche de la puberté, où elles sont commandées par l'activité ovarienne. Dans les périodes de repos (anoestrus et dioestrus) elles sont peu serrées, à peine sinueuses, sauf dans leur partie profonde, qui est plus flexueuse et atteint le voisinage du myomètre. Leur épithélium est cubique ou colonnaire bas et leur lumière étroite, encombrée de débris. Au cours du proœstrus, elles s'allongent, se ramifient et deviennent flexueuses.

L'endomètre s'épaissit et elles s'y enfoncent au point que leurs extrémités profondes, très contournées s'insinuent entre les faisceaux de la partie adjacente du myomètre. Elles s'élargissent et leur épithélium devient plus haut. Les cellules de celui-ci se multiplient et prennent des caractères sécrétoires manifestes. Cette évolution s'accroît fortement lors de l'œstrus et atteint sa plénitude dans le métoestrus. L'endomètre passe alors par une phase sécrétoire active qui prend fin vers le début du dioestrus. Dans ce dernier, les glandes redeviennent peu flexueuses, plus courtes et plus étroites. Leur épithélium perd ses caractères sécrétoires et reprend le type colonnaire bas et cubique (Barone, 1978).

I.3. Rappel physiologique

La femelle non gestante possède une activité sexuelle cyclique à partir de la puberté, cette activité sexuelle se traduit par une succession d'événements précis se reproduisant à intervalles constants, selon un rythme propre à chaque espèce. Le cycle sexuel d'une femelle non gestante se traduit par des modifications qui se situent à différents niveaux :

- _ Au niveau comportemental : l'œstrus ou chaleur est l'événement caractéristique du comportement sexuel cyclique de femelle ;

- _ Au niveau de l'ovaire : le remaniement cyclique des éléments cellulaires du cortex ovarien est rythmé sur la production de gamètes lors de l'ovulation;

_ Au niveau des voies génitales : l'endomètre présente une évolution cyclique très marquée, et l'activité sécrétoire du col utérin est modifiée;

_ Au niveau hormonal : des sécrétions hormonales de l'hypothalamus, de l'hypophyse et de l'ovaire contrôlent la succession des événements du cycle.

Chez certaines espèces et dans certaines conditions, par exemple liés aux variations de la durée du jour, cette activité cyclique peut être suspendue temporairement chez la plupart des femelles (**Batellier *et al.*, 2005**).

Chez tous les mammifères, l'appareil génital femelle présente au cours et pendant toute la période d'activité génitale, des modifications morphologiques et physiologiques se produisant toujours dans le même ordre et revenant à intervalles périodiques, suivant un rythme bien défini pour chaque espèce.

Ces modifications, connues sous le nom de cycle sexuel ou cycle œstral, commencent au moment de la puberté, se poursuivent tout au long de la vie génitale et ne sont interrompues que par la gestation. Elles dépendent de l'activité fonctionnelle cyclique de l'ovaire régulée par ses propres sécrétions hormonales, elles-mêmes sous dépendance étroite des hormones gonadotropes hypothalamo-hypophysaires (**Derivaux et Ectors, 1985**).

• Cycle œstral de la vache

La vache appartient aux espèces à cycle continu, c'est-à-dire des cycles sans interruption et se succédant toute l'année. La durée du cycle est en moyenne de 15 à 25 jours, avec une succession de plusieurs (2 ou 3) vagues folliculaires; les variations dépendent de l'âge mais aussi de la race, de la saison et des conditions d'entretien de l'animal (**Derivaux, 1971**).

Par définition, les vaches sont en œstrus (ou chaleurs) quand elles acceptent la monte (en se tenant immobiles par un taureau ou d'autres vaches). Cet œstrus dure en moyenne 20 heures. La ponte ovulaire se situe en moyenne 12 - 15 heures après la fin de l'œstrus (**Derivaux, 1971**). L'activité de l'ovaire est mise en évidence par l'apparition d'un comportement d'œstrus, celui-ci permettant de caractériser le début d'un cycle œstral. L'évolution cyclique comprend alors deux phases distinctes qui sont rapportées dans le tableau I:

Tableau I : Description des phases du cycle œstral de la vache

Phases	Description
Phase folliculaire	ostrogénique qui correspond à la maturation des follicules de De Graaf. (Derivaux, 1971)
Phase lutéinique, ou lutéale, progestéronique	-s'étend au cours de l'activité des corps jaunes cycliques. (Marien, 1993) -un cycle œstral défini quatre périodes • Le proœstrus : période de maturation folliculaire (= phase folliculaire) • L'œstrus: période de fin de maturation et ovulation (= chaleurs) • Le postœstrus ou metœstrus : formation et fonctionnement du corps jaune • Le dioœstrus : fonctionnement du corps jaune et lutéolyse

I.4. Etats de l'utérus en postpartum

Il existe deux états de l'utérus : état normal et état pathologique ils sont indiqués dans le tableau II

Tableau II : Etats de l'utérus en postpartum

Etat normal	Etat pathologique
- Normalement, l'involution macroscopique de l'utérus chez la vache est complète en trois à quatre semaines postpartum. - Après la parturition, le volume et le poids de l'utérus subissent une réduction très rapide jusque vers le vingtième jour postpartum, selon une courbe logarithmique. (Badinand, 1981) - C'est entre le cinquième et le quatorzième jour que la réduction de l'utérus est la plus importante. (Gier et al., 1968) - La régression du myomètre ne s'accompagne donc pas de processus de nécrose ou de dégénérescence. (Archbald et al., 1972) - L'endomètre régresse durant les cinq jours suivant la mise bas, pour être éliminé entre le sixième et le huitième jour. (Gsell, 1979) - l'épithélium apparait dès les premiers jours, il recouvre progressivement tout l'endomètre, y compris les caroncules - Des histiocytes, des monocytes, des mastocytes, des polynucléaires et des cellules géantes multi nucléées apparaissent rapidement dans l'épaisseur de l'endomètre. (Badinand, 1975) - L'endomètre retrouve une structure histologique normale en trente à cinquante jours. - L'utérus de la plupart des vaches est contaminé par une large variété de bactéries au moment du vêlage ou immédiatement après (Elliot et al., 1968) - Les germes sont progressivement éliminés à la faveur de l'involution et de la vidange de l'utérus et grâce aux défenses locales. (Sheldon, 2004)	- L'involution utérine et cervicale est ou non complète - L'état inflammatoire de l'utérus se caractérise par un œdème, une congestion de la muqueuse et une importante infiltration leucocytaire - On peut observer la présence ou l'absence d'un contenu anormal (mucopurulent ou purulent) de la cavité utérine - Sur une coupe anatomopathologique, on peut observer des zones de desquamation avec atteinte dégénérative des zones glandulaires - une infiltration de l'épithélium superficiel, une dilatation ou une hypoplasie des glandes et de la fibrose periglandulaire (Leblanc et al., 2002; Sheldon et Noakes, 1998) - une persistance de ces germes au-delà de soixante jours postpartum devient pathologique, et est à l'origine de retards de mise à la reproduction (Elliott et al., 1968).

I.5. Physiopathologie

Définir l'infection utérine n'est pas chose aisée mais est cependant indispensable pour poser un diagnostic individuel aussi exact que possible et quantifier l'importance de cette affection au niveau collectif. Cette difficulté résulte du manque d'harmonisation des méthodes et des critères de diagnostic. Il faut donc distinguer l'infection (processus pathologique) de la contamination bactérienne initiale (processus physiologique). L'infection implique l'adhérence d'un germe à la muqueuse, la colonisation voire la pénétration de l'épithélium par ce germe et/ou la libération de toxines conduisant au développement d'une pathologie utérine ou génitale rarement mortelle cependant (**Sheldon et Dobson, 2004**). La plupart des vaches éliminent les bactéries durant les cinq premières semaines postpartum, mais lorsque la réponse immunitaire systémique ou locale de l'utérus est inhibée, les bactéries peuvent s'établir dans l'utérus, proliférer et finalement causer une infection utérine (**Lewis, 1997; Sheldon et al., 2003**). Ceci se produit dans 10 à 17% des cas dans lesquels l'infection utérine est détectée lors de l'examen génital de l'animal (**Leblanc et al., 2002; Sheldon et al., 2006**).

Les infections utérines peuvent se définir selon plusieurs critères tels la localisation histoanatomique, le délai d'apparition, les signes histologiques, les symptômes engendrés et leur gravité ou encore le germe responsable. (**Lewis, 1997; Dumoulin, 2004**).

I.5.1. Classification des inflammations utérines et leurs symptômes

Les infections utérines sont classées par les différentes études, selon: la localisation tissulaire de l'inflammation, le délai d'apparition par rapport au vêlage. Dans ce paragraphe, nous apporterons une nouvelle classification proposée par (**Sheldon et al., 2006**).

I.5.1.1. La localisation tissulaire de l'inflammation

a. Endométrite

C'est une inflammation superficielle de l'endomètre ne s'étendant pas au-delà du stratum spongieux. D'un point de vue anatomopathologique correspond à l'inflammation de la muqueuse utérine seule. Histologiquement, l'endométrite est caractérisée par des pertes épithéliales, une infiltration de cellules inflammatoires, un œdème du stroma, une congestion et différents degrés d'accumulation de lymphocytes ou de cellules plasmatiques dans les couches superficielles (**Bondurant, 1999**). Elle ne provoque pas de symptômes généraux et est associée à une inflammation chronique du post partum (**Lewis, 1997**).

(**Leblanc et al., 2002**) l'ont défini par la présence d'écoulement purulents, fétides et par un diamètre cervical supérieur à 7,5 cm entre 20 et 30 jours post partum.

b. Métrite

La métrite proprement dite est une inflammation de l'ensemble de l'endomètre et du myomètre. Elle se caractérise cliniquement par un écoulement pathologique à l'orifice postérieur du col et par l'infertilité (**Lewis, 1997**).

c. Para métrite

C'est une inflammation de la séreuse ou des ligaments suspenseurs de l'utérus (Kennedy et Muller, 1993).

I.5.1.2. Le délai d'apparition de l'inflammation par rapport au vêlage

En accord avec la majorité des auteurs, on distinguera l'endométrite puerpérale (ou aigue), l'endométrite chronique, le pyromètre et l'endométrite subclinique. Les trois premiers types peuvent se diagnostiquer au moyen des méthodes propédeutiques classiques. La dernière implique le recours à des méthodes complémentaires.

Une classification récente a été proposée par (Sheldon *et al.*, 2006) qui a le consensus de la communauté scientifique pour la définition des infections utérines. Selon les travaux de ces chercheuses, les infections utérines sont classées en quatre types.

a. Métrite puerpérale (ou aigue)

C'est une infection utérine se manifestant au cours des 21 premiers jours du post-partum. La contamination bactérienne de la lumière utérine est quasi systématique après le vêlage (Paiseley *et al.*, 1986). La persistance des bactéries est à l'origine d'une infection utérine.

b. Endométrite chronique

Peu faire ou non, suite à une endométrite puerpérale. Elle est détectée au cours ou au-delà de la troisième semaine post partum. Elle est caractérisée d'une part, par une absence de symptômes généraux et une involution utérine et cervicale complète ou non et d'autre part, par des écoulements purulents (>50% de pus). Mucopurulents (approximativement 50% de mucus) et un diamètre cervical supérieur à 7,5 cm. La muqueuse utérine est congestionnée et d'importante infiltration leucocytaire, zones des desquamations avec atteinte dégénérative des zones glandulaires, et des fibroses péri glandulaires sont observées.

c. Pyromètre

C'est une accumulation du pus dans la cavité utérine, et une distension utérine associée à une fermeture de col. Il s'accompagne d'une répercussion sur l'état général de la vache.

d. Endométrite sub-clinique

C'est un état inflammatoire de l'endomètre caractérisé par une absence des sécrétions anormales dans le vagin, voir une présence d'une quantité minimale d'exsudat dans la cavité utérine. Elle apparaît après de la mise bas. Son diagnostic implique le recours à un examen cytologique. L'endométrite sub-clinique est confirmée si la proportion de neutrophiles est supérieure à 18% durant le 21ème aux 33ème jours du post partum ou, en l'absence des signes d'endométrites.

I.5.2. Prévalence et impact des endométrites

La prévalence de l'endométrite clinique est estimée de 16,9% (**Leblanc et al., 2002**). Mais selon le seuil rapporté par (**Gilbert et al., 2005**) cette dernière varie de 3,4 à 40%. Cette variation est imputée à un manque d'harmonisation d'une méthode de diagnostic clinique des métrites, et aux facteurs épidémiologiques variable d'un troupeau à l'autre (**Azawi, 2008 ; Sheldon et al., 2006 ; Sheldon et al., 2008**).

Les endométrites perturbant le retour à l'état physiologique de l'utérus (**Recorbet, 1987**), mais implique également des perturbations hormonales et immunitaires très importantes (**Singh et al., 2008 ; Sheldon et al., 2009**) la persistance d'une infiltration leucocytaire de l'endomètre bovin a été identifiée depuis longtemps comme un facteur retardant le processus normal d'involution utérine et ainsi perturbant la fonction de reproduction (**Gier et Marion, 1968**). Plus récemment des troubles de la fonction ovarienne et une réduction de la fertilité ont été rapportés (**Sheldon et al., 2009 ; Opsomer et al., 2000**). Les vaches dont l'utérus est contaminé par des bactéries présentent :

- a- Une croissance folliculaire réduite
- b- Des concentrations plasmatiques en œstrogène et progestérone moindre, ainsi qu'un risque d'anoestrus plus important (**Sheldon et al., 2002 ; Williams et al., 2007**).
- c- Une réduction de la taille du corps jaune, cinq à sept jours après l'ovulation, et une diminution de la progestéronémie (**Williams et al., 2007**).

I.6. Facteurs de risque

- **Fécondité antérieure et antécédents pathologiques**

Les femelles ayant déjà présenté un retard à l'expulsion des enveloppes ou une métrite sont plus sujettes à l'infection que les autres. Une infection bactérienne latente ou une infestation parasitaire massive, sans influence apparente sur la fécondité, est favorable à la multiplication des bactéries dans l'utérus après le part. On a pu aussi noter la sensibilité particulière des vaches atteintes de brucellose latente (**Badinand, 1975**).

- **Facteurs liés au part**

Lors de vêlage dystocique, les manœuvres obstétricales sont plus longues et plus nombreuses. Ces manœuvres provoquent souvent des lésions et des déchirures au niveau de la filière pelvienne, et favorisent aussi l'introduction dans le milieu utérin de bactéries. C'est cette introduction de germes qui est la cause principale des endométrites.

De plus, lors de dystocie ou après une hystérotomie, les complications postpartum tels qu'un retard d'involution utérine associée ou non à une rétention placentaire peuvent également favoriser l'apparition d'une endométrite (**Curtis et al., 1985 ; Erb et al., 1985 ; Correa et al., 1993**).

I.7. Diagnostic clinique

Se base sur l'examen clinique et l'examen paraclinique :

I.7.1. Examen clinique

Il est indispensable de recueillir les commémoratifs de l'animal avant de réaliser des explorations complémentaires.

Tout aussi important que le recueil des commémoratifs, l'examen général se composera de la prise des fréquences respiratoire et cardiaque, de l'examen des muqueuses, de l'évaluation du comportement, de l'appétit, de la présence de boiteries, de la sante mammaire, de l'état corporel, de la présence d'écoulements anormaux ...

I.7.2. Examen paraclinique

La bactériologie est l'examen qui certifie la présence ou l'absence d'un germe dans l'utérus et la discrimination des germes pathogènes ou opportunistes.

Cette méthode permet la mise en culture de prélèvements utérins : l'écouvillonnage de la paroi à l'aide d'un coton.

Dans certains cas l'endométrite ne s'accompagne d'aucun signe clinique détectable par l'observation des sécrétions vaginales. (**Kasamanickam et al., 2004**)

I.7.2.1. Méthodes d'analyses du laboratoire

❖ Enrichissement

Chaque écouvillon est ensemencé dans un tube de bouillon nutritif à proximité du bec bensen puis incube pendant 24heures à 37°C(**Le Minor et Veron, 1982 ; Pilet et al., 1981**)

❖ Coloration de Gram

Une coloration de Gram est réalisée selon la méthode préconisée par **Singleton (2005)**.

❖ Recherche de la catalase

Le catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricide (**Chaala, 2013**).

La catalase est une enzyme qui permet de scinder l'eau oxygénée en oxygène (O₂) et eau (H₂O).

❖ Recherche de l'oxydase

L'oxydase est une enzyme qui intervient dans les phénomènes d'oxydoréduction.

❖ Galerie api 20E

Objectif du test : API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. (**Bio Mérieux sa. France. Version 04/98**)

Principe : La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et d'identification (**Annexe III**).

❖ Identification

L'identification du genre est effectuée par l'aspect de colonie sur gélose, la réalisation d'une coloration de Gram, ainsi que la recherche de catalase pour les bactéries à Gram⁺ et de l'oxydase pour les bactéries à Gram⁻.

- ***Escherichia coli***

Escherichia coli est un membre de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont de courts bacilles droits. Leur taille varie de 1 à 6 µm. Excepté quelques souches, ces bactéries sont mobiles. Elles sont Gram négatif. Elles ne sont pas exigeantes et poussent facilement sur milieux ordinaires. Leur température optimale de croissance est de 35 à 37 °C et leur pH de croissance varie de 6,9 à 7,2. La taille des colonies est de 1 à 3 mm de diamètre. Sur Hektoen, elles apparaissent jaune-saumon (Lactose +) sans centre noir (H₂S-). Les *Escherichia coli* sont des aéro-anaérobies facultatifs. Ils ont un métabolisme fermentaire, et sont oxydase négative et catalase positive. (**Denis et al., 2007**).

- ***Serratia*:**

Toutes les *Serratia* possèdent une gélatinase et une DNase, d'une manière générale, les espèces de ce genre sont isolées des plantes (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs (40% des petits mammifères sauvages sont porteurs de *Serratiaspp.*), des insectes, de l'eau et du sol. Le genre *Serratia* comprend maintenant dix espèces, la principale espèce pathogène du genre est *Serratiamarcescens* qui provoque habituellement des infections (**Denis et Ploy, 2007**).

- ***Staphylocoques***

Les membres du genre *Staphylococcus* sont des coques à Gram positif de 0,5 à 1,5 µm de diamètre qui se retrouvent en amas sous la forme de grappes de raisins et, dans de plus rares cas, isolé, en paires (diplocoques), en tétrades, ou en chaînettes (3 à 4 cellules). Les amas sont particulièrement nets dans des préparations faites à partir de cultures sur milieux solides. Ils sont immobiles, non sporulables et sont typiquement non encapsulés. Les *Staphylocoques* sont généralement catalase positive et oxydase négative. Ils se classent en fonction de leur production ou de leur absence de production de la coagulase. Le genre *Staphylococcus* est actuellement composé de 42 espèces et 21 sous-espèces.

Les *Staphylocoques* sont des pathogènes majeurs chez les animaux. Les espèces *S. aureus* sont d'une importance particulière dans les infections vétérinaires (**El Kour, 2003**).

- ***Streptocoques***

Les espèces bactériennes appartenant au genre *Streptococcus* sont des coques, à Gram positif et catalase négative, de moins de 2 µm de diamètre qui tendent à croître en chaînettes dans un milieu liquide.

Les *Streptocoques* sont des bactéries anaérobies facultatives. Leur croissance est augmentée en présence de 5% de CO₂. La température optimale pour la plupart des *Streptocoques* est environ 37°C. La complexité des exigences nutritionnelles des streptocoques est habituellement fournie par l'addition de sang ou de sérum dans le milieu de croissance. Tous les *Streptocoques* sont catalase négative lors de l'exposition à 3% de peroxyde d'hydrogène. Des réactions faussement positives peuvent se produire si les bactéries ont poussé sur milieu de croissance contenant du sang. Le genre *Streptococcus* est actuellement composé de 68 espèces et 11 sous-espèces.

Le pouvoir hémolytique :

- Hémolyse incomplète : *Streptocoques* alpha-hémolytiques,
- Hémolyse complète : *Streptocoques* bêta-hémolytiques,
- Pas d'hémolyse : *Streptocoques* non hémolytiques.

(Kawamura et al., 1999)

- ***Bacillus***

C'est une bactérie Gram positive qui se présente sous la forme d'un bâtonnet épais, aux bouts carrés, immobile, capsulé et capable de former une spore.

Il existe donc sous deux formes : la forme végétative, dans l'organisme de l'hôte, et la forme sporulée (endospore à position centrale), dans le sol ou les déchets d'animaux infectés (os, peau, laine...).

Cette bactérie possède plusieurs structures « de recouvrement », associées à ses caractères de virulence (cfr infra) : une capsule, composée de polypeptides de poly-D-Glutamate, et une « couche de surface » (S-layer), cristalline et bi-dimensionnelle, située sous la capsule.

La capsule se forme à 37°C, après 1h *in vivo*, en présence de bicarbonate. Cela signifie qu'elle se forme très vite dès l'entrée de la bactérie dans l'organisme-hôte, et plus ou moins de manière concomitante avec la germination de la spore. Cela laisse peu de temps aux défenses immunitaires de combattre l'infection.

Le genre *Bacillus* est très hétérogène et comprend en mois 36 espèces.

(Schoenaers and Kaeckenbeeck, 1973).

- ***Proteus mirabilis***

Ce sont des bactéries très mobiles (pouvant envahir les milieux de culture) qui se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques (uréase +, tryptophane désaminase +) et leur résistance naturelle à la colistine. C'est un commensal du tube digestif. *Proteus mirabilis* vient au second rang, après *E.coli*, dans l'étiologie des infections urinaires de ville (10 % des cas). C'est une espèce bactérienne habituellement sensible aux antibiotiques. (Archambaud et Clave, 2004).

- ***Pseudomonas***

Les *Pseudomonas* sont aérobies stricts, oxydase positif, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques.

Saprophytes, on les trouve essentiellement dans l'eau. Ils peuvent contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides.

L'espèce *Pseudomonas*, a les caractères suivants :

- protéolytique,
- production de deux pigments : la pyocyanine, et la pyoverdine ou fluorescéine
- production d'une exotoxine nécrosante par certaines souches.

Elle est ainsi responsable

- des suppurations à « pus bleu » des blessures et des brûlures,
- d'infections locales iatrogènes après manoeuvre instrumentale : urinaires après cathétérisme, broncho-pulmonaires chez des sujets sous respirateurs, oculaires sur lentille de contact,
- de septicémies chez les brûlés, les granulopéniques (aplasies toxiques ou thérapeutiques),
- de surinfection des bronches dans la mucoviscidose, grâce à la production d'élastase.

(Boutoille et *al.*, 2009)

❖ **La résistance aux antibiotiques**

Pour toute identification biochimique positive un antibiogramme est réalisé.

Définition

Un antibiotique est toute substance, naturelle ou synthétique capable d'inhiber in vivo le développement des bactéries. Les molécules d'antibiotiques doivent être idéalement les plus toxiques pour les bactéries et les moins toxiques pour les cellules de l'organisme qui les hébergent. On les divise en antibiotiques à large spectre ou à spectre étroit selon leur activité contre beaucoup ou peu de germes (Gaudy, 2005).

Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (Gaudy, 2005) :

- a- Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.
- b- Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane plasmique.
- c- Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.
- d- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs.

La résistance aux antibiotiques peut se manifester de deux manières distinctes :

(d'Acremont et *al.*, 2006)

- Résistance naturelle: on parle de la résistance naturelle lorsque toutes les souches de la même espèce sont résistantes à un antibiotique donné.
- Résistance acquise : la résistance acquise advient lorsque quelques souches d'une même espèce normalement sensibles deviennent résistantes. C'est une résistance chromosomique acquise par mutagénèse. Et les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaire, circulaires et cytoplasmiques, de petite taille (5 à 4000 fois plus petit que le chromosome), se répliquant d'une manière autonome et non indispensables au métabolisme normal de cellule-hôte. Leur transmission d'une cellule bactérienne à une autre peut s'effectuer par conjugaison (Tra+) ou transduction.

Principe

Il consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci et ainsi de déterminer l'activité in vitro de ces d'antibiotiques présumés actifs sur la bactérie. Donc la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie.

1.7.2.2. Intérêt diagnostique de l'examen bactériologique

L'examen bactériologique permet de confirmer la présence ou non de germes dans l'utérus. L'interprétation des résultats n'est cependant pas des plus aisée. Cela dépend en effet de la méthode utilisée pour prélever un échantillon, des conditions de stockage et d'envoi des prélèvements, de la capacité du laboratoire à faire l'analyse demandée, de la présence en quantité suffisante du germe dans le prélèvement, de son association avec d'autres germes pathogènes ou opportunistes, de son caractère pathogène ou opportuniste, du stade du postpartum ou encore de la pression d'infection présente dans l'exploitation. Ainsi, l'identification de *E. coli* le lendemain du vêlage augmente sensiblement la probabilité d'identifier des anaérobies à Gram négatifs quatorze jours plus tard (Dohmen et al., 2000). La présence d'*E. coli* et des *Streptococcie* (Dohmen et al., 1995 ; Miller et al., 1980 ; Studer et Morrow, 1978 ; Bonnett et al., 1991bc). Le germe identifié peut également dépendre du moment du prélèvement au cours du postpartum (Sheldon et Dobson, 2004).

Un germe ne pourra être rendu responsable d'une endométrite que s'il est reconnu pour sa pathogénicité utérine, s'il est retrouvé plusieurs fois sur le même animal et s'il s'accompagne de lésions histologiques de l'endomètre. Il semble donc bien que cette méthode de diagnostic doit être réservée à des situations d'élevages spécifiques telles que des endométrites enzootiques ou résistantes à des traitements classiques.

1.7.2.3. Les différents pathogènes impliqués

Les germes identifiés sont classiquement reconnus comme étant les facteurs déterminants responsables des infections utérines.

Les études menées par Huszencza et Dohmen comparent la bactériologie des vaches normales avec celles présentant une endométrite (Huszencza et al., 1999 ; Dohmen et al., 1995).

Tableau III : Fréquence (%) d'isolement de germes chez des vaches à endométrites (Huszenicza et al., 1999; Dohmen et al., 1995)

Bacteries	24 heures post-partum	21-60 jours post-partum
<i>Escherichia coli</i>	55%	36%
Gram négatif	10%	80%
<i>Streptocoques</i>	7%	12%
Gram positif	20%	21%
<i>Staphylocoques.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Proteusspp.</i> , <i>Clostridium spp.</i>	7%	9%

Ces études et d'autres ont permis une classification des germes identifiés dans l'utérus au cours du postpartum chez la vache (Williams et al., 2005). Ainsi peuvent être qualifiés de pathogènes, *E. coli*. A l'inverse les germes suivants sont reconnus comme pathogènes potentiels ou simples opportunistes : *Staphylocoques.*, *Streptocoques.*, *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Proteus mirabilis* (Tableau IV).

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

PATHOGENES MAJEURS	POTENTIELLEMENT PATHOGENES	CONTAMINANTS OPPORTUNISTES
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Pasteurella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus non-hemolytique</i>	<i>Clostridium</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus mirabilis.</i> <i>Staphylococcus sp., coagulase négative</i> <i>Streptococcia-Hemolytique</i> <i>Streptococcus</i>

I.9. Conséquences des endométrites

I.9.1. fertilité et objectifs de reproduction en élevage laitier

I.9.1.1. Notion de fertilité : application en élevage bovin laitier

La fertilité : peut se définir comme la capacité de se reproduire, ce qui correspond chez la femelle à la capacité de produire des ovocytes fécondables.

La fécondité : caractérise l'aptitude d'une femelle à mener à terme une gestation, dans des délais requis, Elle peut être réalisée sur les seuls animaux gestants du troupeau (fertilité apparente) ou prendre également en considération les animaux inséminés mais réformés par la suite (fertilité totale). La fécondité comprend donc la fertilité, le développement embryonnaire et fœtal, la mise bas et la survie du nouveau-né. Il s'agit d'une notion économique, ajoutant à la fertilité un paramètre de durée.

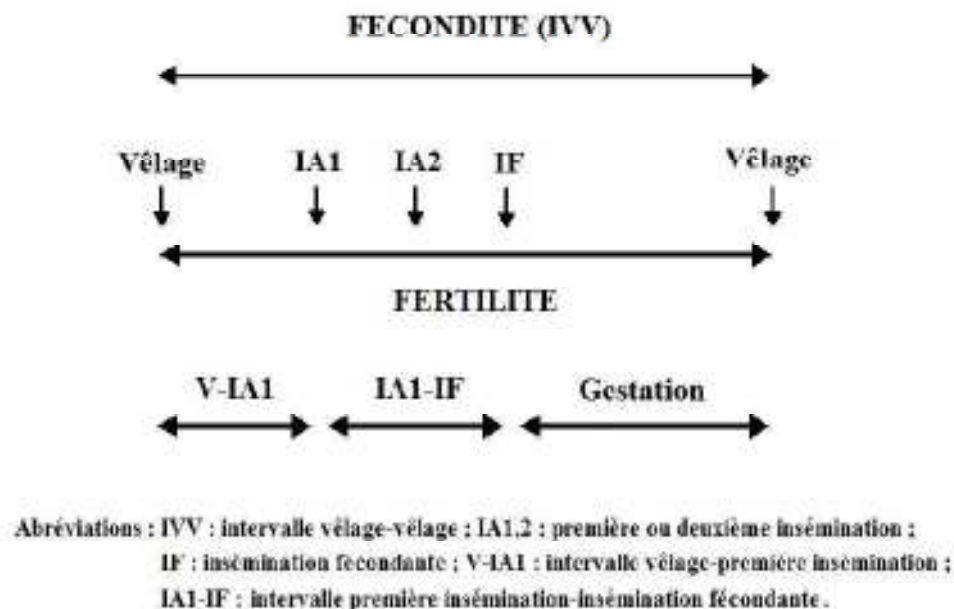


Figure 3: Notions de fertilité et de fécondité appliquées en élevage bovin laitier
(d'après Tillard et *al.*, 1999).

I.9.1.2. Paramètres de fécondité

- L'âge du premier vêlage
- Intervalle vêlage-vêlage
- L'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante
- L'intervalle entre le vêlage et la première chaleur
- Nombre de gestations

I.9.1.3 Paramètres de fertilité

- ✓ Taux de réussite première insémination artificielle
- ✓ Intervalle vêlage et première insémination
- ✓ Intervalle entre la première insémination et l'insémination fécondante
- ✓ Nombre total d'inséminations nécessaires à l'obtention d'une gestation
- ✓ Index de fertilité

I.9.2 Altération de la fertilité et de la fécondité

De nombreuses études ont confirmé l'effet délétère des endométrites sur les indicateurs de la reproduction. Les répercussions défavorables concernent à la fois les critères de fertilité et de fécondité. L'intervalle vêlage - première insémination est augmenté de sept jours en moyenne et la réussite en première insémination est fortement altérée par rapport aux vaches saines. L'intervalle vêlage - insémination fécondante est aussi retardé de dix-sept à vingt jours (**Edqvist et al., 1978**). De même, une étude de Leblanc menée sur 1865 vaches laitières montre qu'un diamètre cervical supérieur à 7,5 cm réduit le taux de gestation et les décharges mucopurulentes augmentent l'intervalle vêlage - insémination fécondante d'environ trente-deux jours (**Leblanc et al., 2002**).

Enfin, Nielsen, cité par Roberts (**Martal, 1981**), a montré que les vaches ayant une endométrite sévère nécessitent deux fois plus d'inséminations pour obtenir une gestation que les vaches ayant une endométrite modérée et les vaches saines.

Partie I : Matériel et Méthodes

La fertilité de la vache laitière demeure une préoccupation majeure des vétérinaires. Parmi les facteurs causant les troubles de cette fertilité, l'infection utérine joue un rôle non négligeable.

I.1. Objectifs

Cette étude a pour but :

- L'identification biochimique des bactéries responsables d'endométrites chez la vache laitière.
- L'étude du profil antibiotique des bactéries grâce à la réalisation d'un antibiogramme.

I.2. Cadre de l'étude

Cette étude est réalisée dans le cadre de la préparation d'un projet de fin d'études portant sur « *Etude bactériologique d'endométrites en post-partum chez la vache laitière* ». Elle a été menée au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire d'hygiène, de BLIDA sur une période de **5 mois**, allant du mois de **Décembre 2015** au mois de **Mai 2016**.

I.3. Population étudiée

Cette étude a fait l'objet d'analyse de 30 prélèvements de dix vaches laitières dans les premières 24 heures post-partum et entre 21 et 60 jours post-partum, qui ont été effectués dans l'institut technique des élevages de Baba-Ali.

I.4. Description des échantillons

I.4.1. Répartition des prélèvements selon le délai post-partum

La classification des prélèvements reçus au laboratoire en fonction du délai post-partum est donnée dans le tableau V.

Tableau V : Répartition des prélèvements selon le délai post-partum

Délai post-partum	Nombre de prélèvements
0h-24h	10
21J-60J	20
Total	30

I.4.2. Caractéristiques des vaches incluses dans l'étude

Les informations recueillis ainsi que les résultats de l'examen clinique sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Caractéristiques des vaches laitières prise dans l'étude

Vache n	Race	Age	Délai PP (Jours)	T°c	Nature du vêlage	Complication du PP
1	Holstein Pie-Noir	3 ans	21	38,2	Assister	Rétention placentaire
2	Brune des alpes	4 ans	21	38,6	Normal	Rétention placentaire
3	Montbeliard Pie-Rouge	5 ans	21	38,6	Dystocie	Rétention placentaire
4	Brune des alpes	4 ans	27	38,3	Dystocie	Normal
5	Montbeliard Pie-Rouge	7 ans	40	38,6	Normal	Normal
6	Holstein Pie-Noire	7 ans	47	38,2	Dystocie	Rétention placentaire
7	Montbeliard Pie-Rouge	5 ans	49	38,2	Dystocie	Normal
8	Montbeliard Pie-Rouge	5 ans	54	38,6	Normal	Rétention placentaire
9	Holstein Pie-Noire	8 ans	54	37,6	Normal	Rétention placentaire
10	Holstein Pie-Noire	6 ans	60	38,3	Normal	Normal

I.6. Matériels

Le matériel de l'unité de bactériologie du laboratoire d'hygiène de BLIDA est présenté dans l'annexe I.

Tous les milieux qui ont servi à notre étude ainsi leurs compositions sont rapportée en détail dans l'annexe II.

La liste de tous les antibiotiques utilisés est donnée dans l'annexe IV.

I.7. Méthodes

I.7.1. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements reçus au laboratoire sont recueillis à l'aide d'un écouvillon par le vétérinaire. La région péri-vulvaire est soigneusement lavée et séchée par un papier absorbant. Une main de manipulateur est introduite dans le rectum. Les lèvres vulvaires sont écartées par une aide. L'écouvillon est introduit dans le vagin jusqu'à la fleur épanouie, puis le manipulateur par des mouvements du cervix fait passer à travers les anneaux. Passant le cervix, la gaine interne est découverte par un coup de pousse puis la tige coton est orientée vers l'une des cornes et est appliquée contre la paroi utérine, et on effectue des mouvements des rotations légères. En fin la tige coton est peu à peu retirée pour être réintroduite dans la première puis dans la deuxième gaine. L'écouvillon doublement gainé est retiré du vagin. Dans un endroit propre dans le véhicule du vétérinaire, la tige est placée dans le milieu du transport. Les échantillons sont acheminés rapidement au laboratoire, le transport doit être inférieur à 24 heures.

I.7.2. Analyses du laboratoire

Les analyses qui ont été réalisées au laboratoire de bactériologie sont les suivantes :

I.7.2.1. Enrichissement

Chaque écouvillon est ensemencé dans un tube de bouillon nutritif à proximité du bec bensen puis incubé pendant 24 heures à 37°C

I.7.2.2. Isolement

Après incubation pendant 24 heures, chaque écouvillon est ensemencé en stries de moins en moins serrées directement sur les boîtes de pétries contenant un des milieux suivants :

- Gélose nutritive : *Pseudomonas*, *Bacillus*
- Gélose au sang frais : milieu Mueller-Hinton additionné de 10% de sang humain :
Proteus mirabilis, *Streptocoques*
- Milieu Chapman : *Staphylocoques*,
- Milieu Hektoen : *E.Coli*, *Serratia*

Les milieux sont ensuite placés dans l'étuve à 35°C. Deux lectures sont réalisées à 24h et à 48h respectivement.

I.7.2.3. Examen macroscopique.

C'est l'observation à l'œil nu est une première clé d'identification qui consiste en une description de la couleur et l'aspect des colonies.

I.7.2.4. Examen microscopique

L'examen microscopique est réalisé par la coloration de Gram qui se déroule en deux étapes

Principe de la coloration de Gram

Elle permet de mettre en évidence la morphologie des bactéries et la caractérisation de leur paroi et d'apprécier l'équilibre de la flore intestinale.

***Préparation du frottis**

Prendre une lame propre et dégraissée en y inscrivant le numéro correspondant au prélèvement, puis déposer à l'aide d'une anse de platine, une goutte de l'eau physiologique et une colonie, bien étaler la goutte afin de confectionner un frottis fin et homogène, à la fin sécher le frottis dans un séchoir ou sur la paillasse et le fixer dans la flamme du bec bunsen par trois passages

***Coloration**

Recouvrir la lame de violet de gentiane, laisser agir 1 minute, rejeter le violet en l'entraînant avec la solution de lugol et laisser le lugol agir sur le frottis pendant 1 minute, puis décolorer à l'alcool 90° (la paroi joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif), la lame est tenue inclinée à l'aide d'une pince, la durée de décoloration doit être de 3 à 4 secondes, en vérifiant que la dernière goutte est claire, et stopper la décoloration par un rinçage à l'eau les deux faces de la lame, en suite faire une contre-coloration avec de la fuchsine diluée au 1/10, laisser agir 10 à 20 secondes, et rincer à l'eau, à la fin sécher à la chaleur de l'étuve ou à l'air libre.

***Lecture**

Déposer sur la lame une goutte d'huile à immersion et observer au microscope à l'objectif 100x. On apprécie alors :

- Les bactéries colorées en violet, dites Gram positif.
- Les bactéries colorées en rose, dites Gram négatif.
- La morphologie et le mode de groupement des bactéries. On peut ainsi distinguer des bacilles en forme de bâtonnet, des formes intermédiaires dites coccobacilles qui peuvent être groupés en chaînette, en amas, ou en diplocoque, ou bien des formes sphériques appelées cocci.

I.7.2.5. Caractérisation biochimique du genre bactérien

Les caractères biochimiques consistent en tests enzymatiques et l'identification biochimique

a) Tests enzymatiques***Recherche de la catalase**

La recherche de la catalase consiste à mettre sur une lame une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à laquelle on ajoute une petite quantité de notre inoculum prélevé à l'aide d'une pipette stérile. La lecture doit s'effectuer immédiatement.

- Formation de bulles de gaz —————> catalase +
- Absence de bulles de gaz —————> catalase -

***Recherche de l'oxydase**

La recherche de l'oxydase est réalisée en mettant quelques gouttes de notre culture en eau physiologique et un disque à oxydase. La lecture se fait au bout d'une minute.

- Couleur violet $\longrightarrow$ oxydase +
- Couleur inchangée $\longrightarrow$ oxydase -



Photo 2 : Tests enzymatiques (Personnelle, 2016)

b) Identification des caractères biochimiques

On a procédé aux tests suivants :

***Test des 3 sucres**

Principe : Ce milieu complexe permet de confirmer la fermentation du glucose avec ou sans production de gaz et d'orienter l'identité du germe par l'étude de l'attaque du saccharose, lactose et la production d'H₂S.

Technique : Sur le milieu TSI est ensemencé avec la souche à étudier, la pente du milieu TSI est ensemencée par stries et le culot par pique centrale, puis il est incubé à 37°C pendant 24 heures. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose, la réaction est dite positive si le milieu devient jaune orange.

Il met aussi en évidence la production d'H₂S qui fait virer le milieu au noir ce qui est dû à la formation du sulfure de fer.

Formation de bulles dans la masse du milieu ou contre la paroi signifie la production de gaz.

***Test mannitol-mobilité**

L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Incubation à 37°C durant 18 heures.

L'utilisation du mannitol se traduit par une acidification entraînant un jaunissement de l'indicateur du milieu mannitol ; la mobilité se traduit par une diffusion à partir de la pique centrale vers le fond du tube

***Test de Simmons**

Ce test permet la mise en évidence du citrate perméase : enzyme permettant à la souche l'utilisation du citrate comme seule souche de carbone ; après l'ensemencement avec une strie sur toute la surface et incubation à 37°C pendant 24heures, l'utilisation du citrate se traduit par la libération des ions « OH- », qui alcalinisent le milieu en se traduisant par une couleur bleue après le virage du vert de bromothymol

***Production d'acétone**

La souche à identifier est ensemencée dans un tube qui contient le milieu Clark et Lubs, après incubation à 37°C, pendant 24heures une goutte de VP1 et une goutte de VP2 (VP : VogsProakauer), sont ajoutées ; si après 10min la couleur rouge au préalable devient rose la réaction est dite alors positive

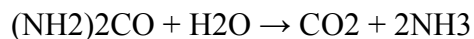
***Recherche de Rouge de Méthyl**

La souche à identifier est ensemencée aussi dans un autre tube qui contient le milieu Clark et Lubs, après incubation à 37°C, pendant 24heures on ajoutera deux gouttes du réactif RM, si enivrant 10min la couleur devient rouge la réaction est dite positive.

***Production de l'uréase**

Principe : L'hydrolyse de l'urée par l'uréase libère de l'ammoniaque qui alcalinise le milieu et fait virer l'indicateur coloré du jaune au rose fuchsia.

Les bactéries qui possèdent une uréase active réaliseront la réaction suivante :



Technique : Le milieu d'urée indole (couleur orange) est ensemencé avec la souche à tester, après incubation à 37°C, pendant 24heures, on ajoute quelques gouttes de réactif Kovacs, s'il y a formation d'un anneau rouge la réaction est dite positive.

***Recherche de la tryptophane désaminase**

Principe : La tryptophane désaminase catalyse la transformation du tryptophane en acide indole pyruvique qui donne un précipité marron en présence du perchlorure de fer.

Technique : Le milieu d'urée indole est ensemencé avec la souche à tester, après incubation à 37°C, pendant 24heures, on ajoute quelques gouttes de réactif TDA, s'il y a obtention d'un précipité marron la réaction est dite positive, et s'il y a pas de précipité la réaction est dite négative.

***Recherche de la β -galactosidase**

Principe : Certaines bactéries possèdent une enzyme intracellulaire, la β -galactosidase, capable de dégrader le lactose en glucose et galactose.

Le test à l'ONPG est une méthode simple et rapide qui permet de rechercher directement cette enzyme. On utilise pour cela un substrat synthétique, l'ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside, composé incolore, qui est scindé par l'enzyme en libérant l'orthonitrophénol, un composé jaune en solution.

Technique : La souche à étudiée est ensemencée dans un tube de 2ml d'eau physiologique puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque d'Ortho-Nitro-Phenyl-Galactopyranoside (ONPG). Après incubation à 37°C, pendant

24heures la réaction positive se traduit par une coloration jaune due à la libération d'orthonitrophenol dans le milieu.

***Recherche de L.D.O ; O.D.C et A.D.H**

Les milieux liquides : Lysine décarboxylase, ornithinedecarboxylase, Arginine dihydrolase de couleur violette pour la recherche des décarboxylase et dihydrolase bactériennes. Dans trois tubes différents on ensemence la souche à étudier, et nous avons ajouté l'huile de la paraffine car il s'agit d'enzymes anaérobies (cytoplasmiques). A la fin, les trois tubes et le tube de témoin ont été incubés à 37°C pendant 24 heures, si la couleur reste violacée trouble, la réaction est dite positive et si elle devient jaune la réaction est dite négative

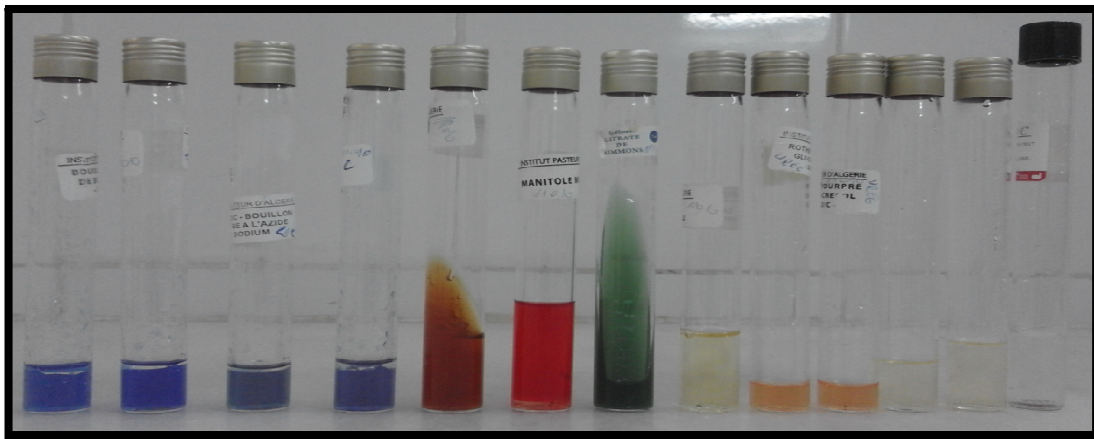


Photo 3 : Galerie classique d'identification des caractères biochimiques (Personnelle, 2016)

❖ Galerie api 20E

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Mode opératoire

***Préparation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

***Préparation de l'inoculum**

- Utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.
- A l'aide d'une pipette prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélose(24h).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

***Inoculation de galerie**

-Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette.

- Pour les tests CIT VP et GEL remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules).
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, créer une anaérobiose en remplissant leur cupules d'huile de paraffine.

-Refermer la boîte d'incubation.

-Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

***Lecture**

-Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe III**).

-Noter sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif KOVACS. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats.
- Test VP : ajouter une goutte de chaque réactifs VP1 puis VP2. Attendre au minimum dix minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats.

***Identification**

-L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

-Elle est réalisée à partir de la base de données.

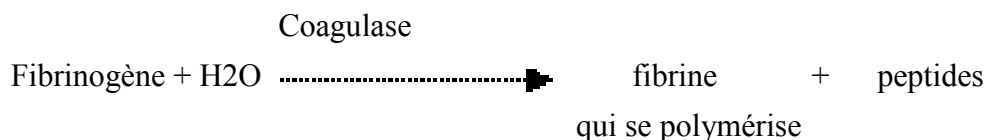
*A l'aide du catalogue analytique (**Annexe III**)

*A l'aide du logiciel d'identification.

❖ Coagulase

Intérêt : Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant les *Staphylococcus. Aureus*.

Principe : La coagulase libre est une enzyme capable de coaguler le plasma de lapin, recueilli sur anticoagulant, in vitro.



Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma de lapin et de la souche à tester.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C.

- Coagulation du plasma =>Coagulase + =>*Staphylococcus aureus*.
- Pas de coagulation du plasma =>Coagulase -

Le test de la coagulase permet l'identification de 99% des souches de *Staphylococcus aureus* mais certaines souches ne produisent pas de coagulase.

II.7.2.6. Antibiogramme

Pour toute identification biochimique positive un antibiogramme est réalisé.

Principe

Il consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci et ainsi de déterminer l'activité in vitro de ces d'antibiotiques présumés actifs sur la bactérie. Donc la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Technique

- Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 à 24h heures sur milieu d'isolement.
- Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse de platine, déchargée dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée.
- Le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Annexe II**), coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum
- Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées
- L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de pétri est ensemencée

Application des disques d'antibiotiques

Déposer les disques (maximum 6 pour une boîte de 90mm) à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile. Ils sont espacés de 24 mm, centre à centre. Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile ou à l'aide d'un distributeur. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont ensuite incubées immédiatement pendant 18-24 heures à 37°C.

Lecture

- Elle se fait par la mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Lire l'antibiogramme de la souche pathogène et comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**Annexe IV**).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories, Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R) aux antibiotiques testés(**AnnexeIV**).

Partie II : Résultats et Discussions

L'analyse des résultats obtenus au cours de notre travail permet de donner un aperçu sur les agents infectieux et leurs profils antibiotiques, chez les dix vaches laitières entre les premières 24 heures et de 21 à 60 jours post-partum.

Pour les endométrites, les points abordés étaient relatifs aux types des métrites rencontrés et les périodes de leurs apparitions. Une enquête similaire a été faite en France par **Duverger (1992)** et en Algérie par **Amokrane (2003)**.

II.1. fertilité en élevage bovin laitier

De nombreuses études rapportent une baisse de la fertilité chez les vaches laitières au cours des deux dernières décennies, cette tendance semblant concerner de nombreux pays.

II.1.1. Paramètres de fécondité

Notre étude a mené à l'obtention des résultats suivants :

- L'âge du premier vêlage : 30 mois

Certaines exploitations atteignent des valeurs correspondant aux objectifs habituellement considérés comme souhaitables soit 24 à 26 mois (**Radostits et Blood, 1985 ; Williamson, 1987 ; Lin et al., 1986 ; Weaver, 1986**).

- Intervalle vêlage-vêlage : 420 jours

L'intervalle vêlage-vêlage s'est fortement allongé, de 385 jours en 1988 à 397 jours en 1997, avec une accélération à partir de 1994 (**Chevallier et al., 1998**).

- L'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante : 140 jours

(La norme est de 117 jour; $P < 0.01$) (**Coleman et al., 1985**). Chez les vaches atteintes d'endométrite clinique, le taux de gestation est moins élevé d'environ 20%, et la moyenne des intervalles V-IAF sont allongés d'environ 30 jours (**Sheldon et Dobson, 2004 ; Dobson et al., 2007 ; Gautam et al., 2009**).

- L'intervalle entre le vêlage et la première chaleur : 90 jours

L'évaluation de ce paramètre est importante car la fertilité ultérieure de l'animal dépend entre autres choses d'une reprise précoce de l'activité ovarienne après le vêlage (**Menge et al., 1962 ; Thatcher et Wilcox, 1973 ; Stevenson et Call, 1983**).

Il semble que ces observations soient à considérer lors d'insémination sur chaleurs observées, et non après synchronisation. En effet, dans une étude de **Kasimanickamet al., (2006)**, les vaches atteintes n'ont pas un taux de gestation significativement différent de celui des vaches saines lorsque ces deux groupes sont synchronisés et inséminés.

- Nombre de gestations : sont présentés dans le tableau VII

Tableau VII : Nombre de gestations pour toute les vaches de l'étude

N° de vache	Nombre de gestation
1	3
2	4
3	3
4	2
5	2
6	2
7	4
8	1
9	1
10	1

II.1.2. Paramètres de fertilité

D'après nos résultats :

- ✓ Taux de réussite première insémination artificielle : 57%

Des taux de gestation en première insémination compris entre 40 et 60 % (**Weaver, 1986**).

Selon **Chevallier et al., (1998)**, dans une étude de terrain conduite de 1988 à 1997, le taux de réussite en première IA s'est sensiblement dégradé jusqu'en 1995, chutant de 60% à 53,4% avant de se stabiliser.

Dans une étude menée à la Réunion, entre 1993 et 2000, le taux de réussite première insémination artificielle est passé de 42 % à 28 % et le pourcentage de vaches fécondées après 110 jours post-partum de 46 à 52 % (**Tillardet et al., 2003**).

- ✓ Intervalle vêlage et première insémination : 90 jours

Depuis longtemps, les vaches atteintes en comparaison aux vaches saines sont reconnues pour avoir un intervalle vêlage - première insémination plus long (norme : 75 ± 0.8 jour; $P < 0.001$) (**Coleman et al., 1985**). Ceci peut expliquer partiellement l'allongement de l'intervalle vêlage-vêlage, notamment du fait du nombre croissant de vaches mises à la reproduction très tardivement (à plus de 90 jours postpartum) (**Chevallier et al., 1998**).

L'intervalle vêlage – première insémination artificielle s'allongerait d'une journée par an en moyenne (**Philipot et al., 2001**).

- ✓ Intervalle entre la première insémination et l'insémination fécondante : 30 jours

L'analyse des intervalles entre IA met en évidence un nombre important de retours tardifs (**Chevallier et al., 1998**). La fréquence d'intervalles longs ou très longs, sensiblement supérieure, suggère une mortalité embryonnaire plus élevée à un stade assez tardif (**Boichard et al., 2002**).

- ✓ Index de fertilité : total : 2 ; apparent : 1.5

- ✓ Nombre total d'inséminations nécessaires à l'obtention d'une gestation est donné dans le tableau VIII

Tableau VIII : Nombre d'inséminations artificielles de toutes les vaches

N° de vache	Nombre d'inséminations artificielles
1	1
2	1
3	1
4	2
5	2
6	1
7	3
8	1
9	1
10	1

Le nombre d'IA nécessaires à la fécondation est passé de 1,75 à plus de 3 sur une période de 20 ans aux Etats-Unis (**Lucy, 2000**), et de 1,54 à 1,75 entre 1990 et 2000 en Irlande (**Meeet *al.*, 2004**). un nombre d'inséminations artificielles supérieurs (norme : 1.96 ± 0.04 ; $P < 0.01$)(**Coleman et *al.*, 1985**). Pour Gilbert et *al.*, (**2005**), 63% des vaches atteintes d'endométrite subclinique, et 89% des vaches saines sont gravides à 300 jours post-partum, et 3 inséminations ont été nécessaires chez les vaches atteintes pour seulement 2 chez les vaches saines. Le taux de gestation suite à la première IA est de 11% chez les vaches présentant une endométrite subclinique, contre 36% pour les vaches saines. La conséquence de ces échecs est un allongement de l'intervalle V-IAF (**Sheldon et *al.*, 2009**).

II.2.Résultats bactériologiques

II.2.1. Identification des bactéries

*Aspect macroscopique

❖ Les souches bactériennes Gram négatif sont :

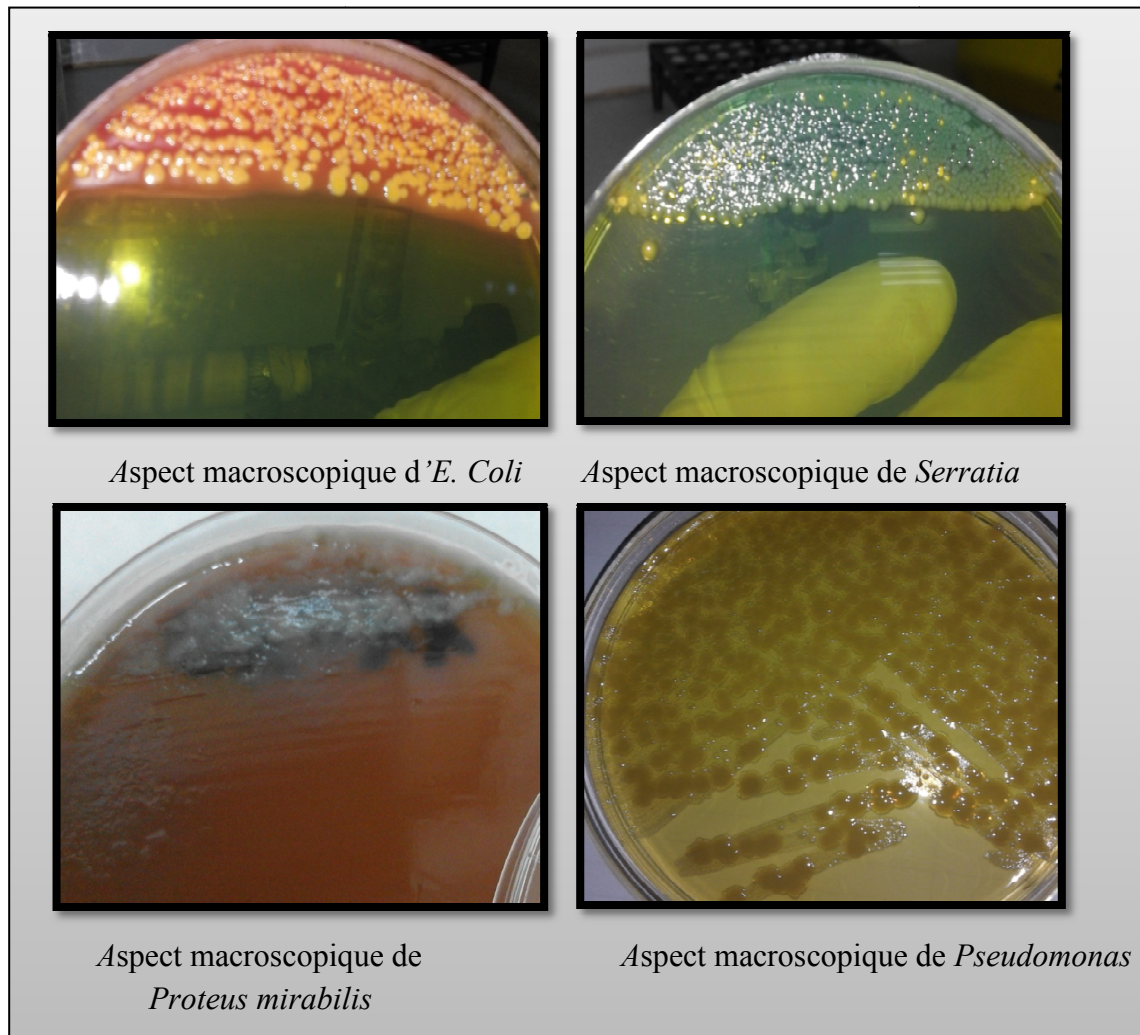


Photo 4 : aspect macroscopique des bactéries Gram négatif après incubation à 37°C/24h
(Personnelle, 2016)

Dans un milieu Hektoen les souches bactériennes ensemencées montrent :

- *E. Coli* est sous forme de colonies rondes, saumon, lisses et laiteuses,
- Et *Serratia* sous forme de colonies rondes, lisses, brillantes à contour régulier et leur diamètre est de 2 à 3 mm.

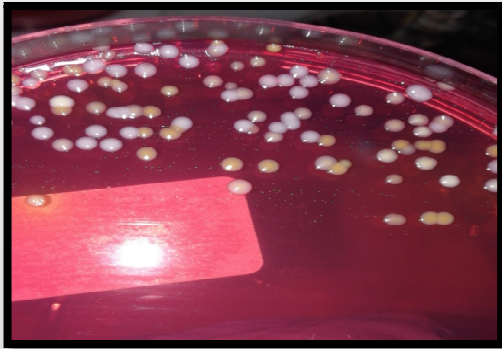
Dans un milieu gélose au sang les souches bactériennes ensemencées montrent :

- *Proteus mirabilis* est sous forme de colonies non hémolytiques, envahissant la surface de la gélose au sang en ondes concentriques.

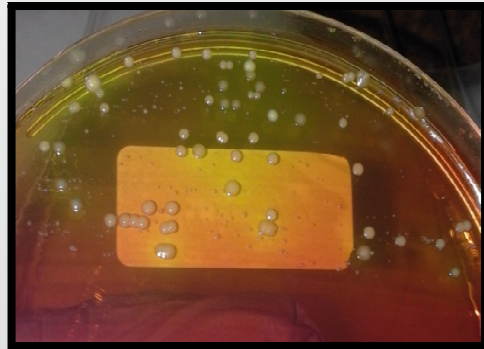
Dans un milieu gélose nutritive les souches bactériennes ensemencées montrent :

- *Pseudomonas* est sous forme de colonies rugueuses au centre opaque et aux bords clairs irréguliers. Elles présentent des petites plages d'autolyses autour de la colonie donnant un reflet irisé.

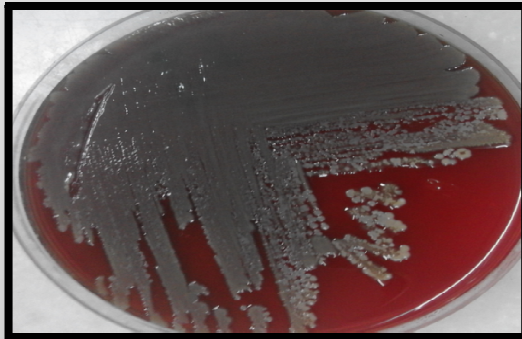
❖ Les souches bactériennes Gram positif sont :



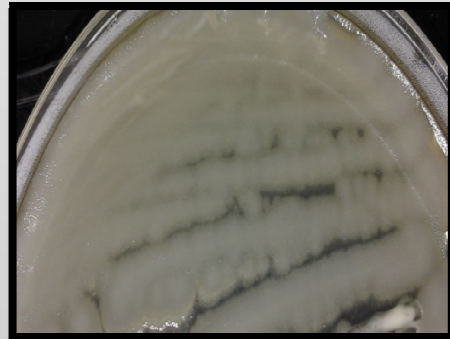
Aspect macroscopique des *Staphylococcus epidermidis*



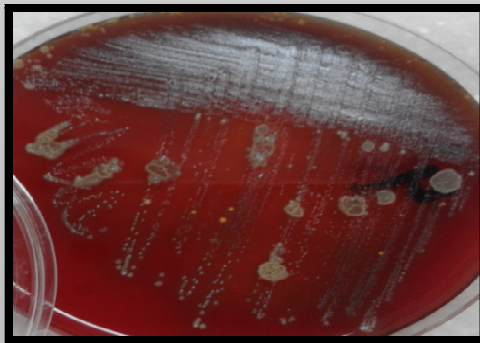
Aspect macroscopique de *Staphylococcus aureus*



Aspect macroscopique de *Streptococcus alpha*



Aspect macroscopique de *Bacillus*



Aspect macroscopique de *Streptococcus beta* hémolytiques

Photo 5 : aspect macroscopique des bactéries Gram positif après incubation à 37°C/24h (Personnelle, 2016)

Sur milieu Chapman des souches ensemencées montrent :

- Des *Staphylocoques* apparaissent sous forme de colonies rondes, blanches ou dorées, lisses et opaques, atteignant 1 à 3 mm de diamètre
- *Staphylococcus aureus* sont sous forme de colonies jaunes entourées d'une zone jaune.

Sur milieu gélose au sang des souches bactériennes ensemencées montrent

- Des colonies très muqueuses, apparaissant comme des gouttes limpides de mucus se sont des *Streptocoques* hémolyse partielle (hémolyse alpha), ou pas d'hémolyse.
- Des petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entouré d'une zone d'hémolyse totale se sont des *Streptocoques* hémolyse beta.

Sur milieu gélose nutritive des souches bactériennes ensemencées montrent

- *Bacillus* sont des colonies aplaties, larges, arrondies, à bords irréguliers, à surface rugueuse, et habituellement non hémolytiques

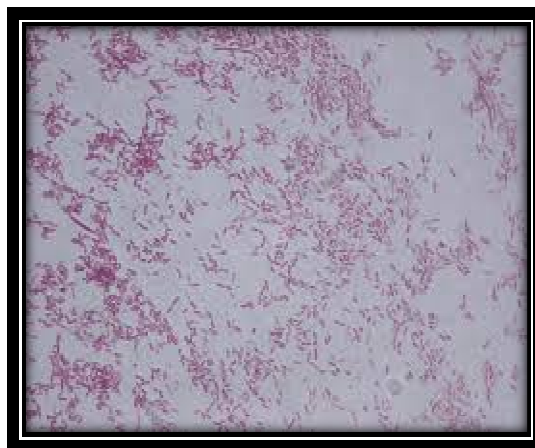
*Aspect microscopique



Observation microscopique de la souche
E. Coli



Observation microscopique de la souche
Proteus mirabilis



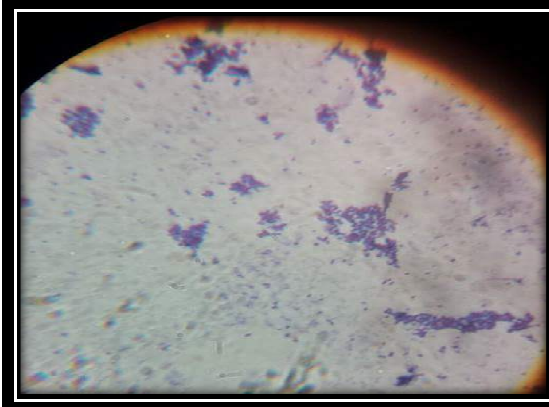
Observation microscopique de la souche *Pseudomonas*

Photo 6 : aspect microscopique des bactéries Gram négatif (Gx100)
(Personnelle, 2016)

D'après la photo : La double coloration de Gram de souches apparentées à *E. Coli*, se révèlent en bacilles de couleur rose donc Gram (-)

Celle apparentes d'être *Proteus mirabilis* sont des bacilles mobiles à Gram négatif

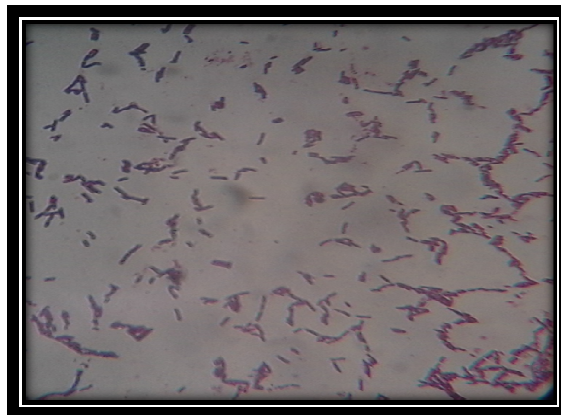
Celle apparentes d'être *Pseudomonas* sont bacilles longs et fins à mobilité polaire Gram négatif



Observation microscopique de la souche
Staphylocoque



Observation microscopique de la souche
Streptocoque



Observation microscopique de la souche *Bacillus*

Photo 7 : aspect microscopique des bactéries Gram positif (Gx100)
(Personnelle, 2016)

Celles apparentes d'être *Staphylocoques* sont en forme des coques à Gram positif qui se retrouvent en amas sous la forme de grappes de raisins et, dans de plus rares cas, isolé, en paires (diplocoques), en tétrades, ou en chaînettes

Celle apparentes d'être *Streptocoques* sont en forme des coques à Gram positif

Celle apparentes d'être *Bacillus* est un gros bacille à Gram positif de , à extrémités carrées, groupéen longues chaînettes photo 7.

***Identification des caractères biochimiques**

Le tableau IX représente les résultats des tests biochimiques recherches pour l'identification des souches des Entérobactéries et *Pseudomonas*.

Tableau IX : Les caractères biochimiques des entérobactéries et *Pseudomonas*

Tests biochimiques	Résultats obtenus			
	<i>E. Coli</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Fermentation des sucres TSI	Glu : + Sac : + Lac : +	Glu : + Sac : + Lac : -	Glu : + Sac : - Lac : -	Glu : +/- Sac : - Lac : -
H ₂ S ou Gaz	Gaz	-	Gaz	-
Citrate de Simmons	-	+	+	+
Mannitol	+	+	-	+/-
Mobilité	+/-	+	-	+
B-galactosidase ONPG	+	+	-	-
Uréase	-	-	+	-
Indole	+	-	-	-
Production d'acétone VP	-	+	-	+/-
Tryptophane Désaminas TDA	-		+	-
Arginine Dihydrolase ADH	+/-	+/-	+/-	+
Lysine Décarboxylase LDC	+/-	+	-	-
Ornithine Décarboxylase ODC	+/-	+	+	-
Oxydase	-	-	-	+
Catalase	+	+	+	+

❖ Les galeries références d'identifications biochimiques d'entérobactéries Api 20 E

1/ l'identification des souches *E. Coli* sur galeries Api 20 E.

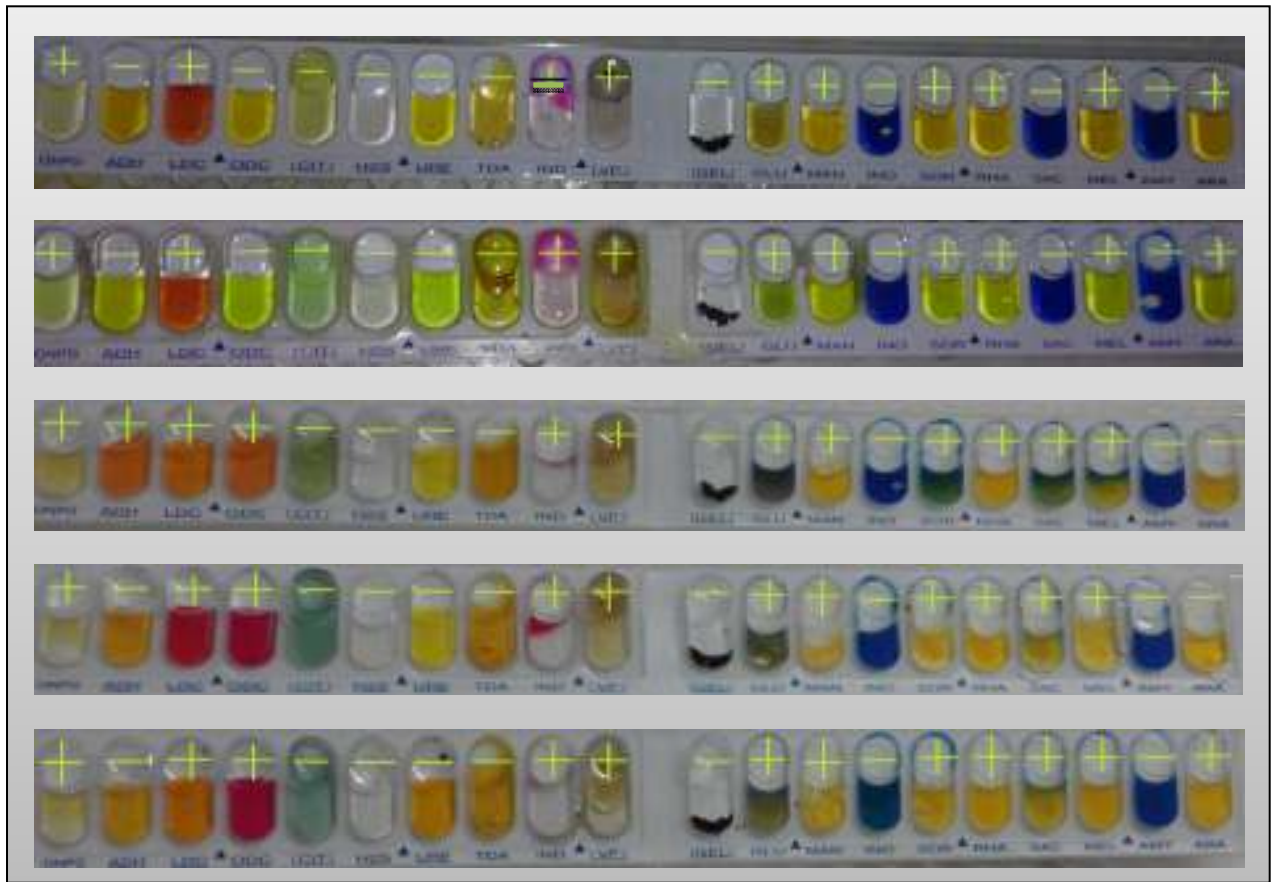


Photo8 : aspect des *E. Coli* sur galeries Api 20 E(Personnelle, 2016)

2/ l'identification de souche *Serratia* sur galerie Api 20 E.



Photo9 : aspect de *Serratia* sur galerie Api 20 E(Personnelle, 2016)

3/ l'identification de *Pseudomonas* sur galeries Api 20 E.



Photo10 : aspect de *Pseudomonas* sur galerie Api 20 E(Personnelle, 2016)

- *Staphylocoque* a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif.
 - Il est catalase positive.
 - Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie).
 - Il est habituellement capable de fermenter le mannitol.
 - Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité.
- Les *streptocoques* sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérants.
 - Ils n'ont pas de catalase.

La mise en évidence des différentes souches selon les différents caractères

a. Milieu TSI

Au cours de notre étude, nous avons trouvé que toutes les souches d'*Escherichia coli* que nous avons analysées fermentent le lactose, le saccharose, le glucose avec production de gaz, et sans production de l'H₂S. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Hajna, 1945 ; Bercheet al., 1988.**

Les espèces *Serratia* et *Proteus mirabilis* ont donné des résultats qui sont en accord avec les résultats décrits par **Tariqet al., 2010 ; Hajna, 1945**, respectivement.

En ce qui concerne les souches de *Pseudomonas*, elles ont donné avec le milieu TSI des résultats négatifs, corroborés par les études de **Dhayanithiet al., 2010.**

b. Utilisation du citrate

Les résultats obtenus avec nos espèces bactériennes analysées sont superposables à ceux obtenus par les travaux de **Sylla, 2005 ; Ying et al., 2009 ; Nkanget al., 2009 ; Zareiet al., 2010.**

c. Production d'indole

Notre étude nous a permis de distinguer des souches d'*Escherichia coli* qui ont donné une réaction positive avec le test indole. Ces résultats sont confirmés par la littérature, en comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Soomroet al., 2002.**

Par contre, ce n'était pas le cas pour les autres espèces étudiées telles que *Serratia*, *Proteus mirabilis*, et *Pseudomonas*. Ces résultats sont d'une part conformes à ceux rapportés par **Alves et al., 2006 ; Zareiet al., 2010 ; Nkanget al., 2009.**

d. Production de l'uréase

Avec l'espèce de *Proteus mirabilis* étudiée, nous avons constaté une réponse à l'urée fortement positive. Ce phénomène s'explique par le fait que cette espèce possède une uréase très active qui entraîne la formation d'ions ammonium. Le résultat obtenu du test uréase avec l'espèce de *Proteus mirabilis* est vérifié par celui noté par **Xian et al., 2011.**

Toutes les souches d'*Escherichia coli*, et *Serratia*, ont donné une réaction négative avec le test de l'uréase. Cela s'explique par l'absence de l'enzyme de l'uréase chez ces espèces. Ces résultats sont corroborés par les résultats qui sont décrits par **Keriet al., 2002 ; Prischmann et al., 2008.**

Il a été décrit dans la littérature et selon les travaux de **Dhayanithiet al., 2010 ;**

Xianet al., 2011 que les *Pseudomonas* donnent une réaction positive avec le test uréase.

D'après notre étude, nous avons trouvé le contraire; nos souches de *Pseudomonas* étaient uréase négative. Nous avons donc pensé à deux éventualités : Possibilité de contamination par une souche à caractère uréase (-), ou il s'agit d'une autre souche.

e. Utilisation du mannitol

Conformément à la littérature (**Nkanget al., 2009**) et durant notre étude, nous avons bien observé des souches d'*Escherichia coli*, qui ont utilisé le mannitol comme source de carbone et d'énergie. En ce qui concerne l'espèce de *Serratia*, elle était mannitol (-), alors que **Prischmannet al., 2008 ; Zareiet al., 2010** ont confirmé l'utilisation du mannitol par cette espèce.

C'est le même cas pour l'espèce de *Proteus mirabilis*, au lieu d'avoir un résultat négatif comme signalé par **Matsenet al., 1972 ; Nkanget al., 2009**, nous avons obtenu un résultat positif.

Pour les souches de *Pseudomonas*, les résultats obtenus sont en parfait accord avec ceux décrits par **Phibbs et al., 1978**.

f. La mobilité

D'après notre étude, nous avons obtenu des résultats positifs concernant le test de mobilité avec toutes les souches d'*Escherichia coli*, *Serratia*, *Proteus mirabilis*, et *Pseudomonas*. Ces résultats sont corroborés par les études de **Dhayanithiet al., 2010 ; Zareiet al., 2010 ; Catherine et al., 1999**.

g. Test ONPG

Dans notre étude, nous avons observé le caractère lactose (+) chez toutes les souches d'*Escherichia coli*.

Selon **Delarras, 2007**, les bactéries Lactose + possèdent la β -galactosidase, et donc elles sont toujours ONPG +. En comparant nos résultats avec ces données, nous pouvons déduire que nos résultats obtenus avec le test ONPG chez *Escherichia coli*, sont corrects.

Par contre certaines bactéries sont dépourvues de la β -galactosidase mais elles sont favorables pour le test ONPG (ONPG+), c'est le cas de *Serratia*. Nous avons obtenu dans notre étude une réaction positive au test ONPG, ce résultat est conforme à celui obtenu par

Zareiet al., 2010.

Dans notre travail, toutes les souches de *Pseudomonas* et *Proteus mirabilis* étaient ONPG (-), ces résultats sont vérifiés par ceux notés par **Djelouat, 2009; Vieuet al., 1978** qui ont confirmé ce caractère.

h. Test RM-VP

Selon **Nkanget al., 2009; Rahman et al., 2010**, les espèces de *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, fermentent le glucose en produisant de nombreux acides organiques plus ou moins forts par la voie des fermentations acides mixtes. Par contre les espèces de *Serratia* fermentent le glucose par la fermentation butanediolique en produisant l'**acétoïne** qui est mis en évidence par le test VP. En ce qui concerne les espèces de *Pseudomonas* et comme signalé par **Dhayanithiet al., 2010**, elles ne fermentent le glucose ni par la voie des acides

mixtes ni par la voie butanediolique, parce qu'elles sont des bactéries aérobies strictes non fermentatives et qui ont un métabolisme oxydatif.

D'après notre étude, nos résultats sont en parfait accord avec ceux décrits par les auteurs précédemment cités.

i. Production de décarboxylases

Pour la recherche de ces enzymes, nous avons utilisé les milieux de Moeller. En comparant nos résultats avec ceux rapportés par **Matsenetal.,1972; Le Minoret al., 1989 ;**

Prischmannet al., 2008 ; Zareiet al., 2010.Nous pouvons dire que notre identification par rapport à ce caractère biochimique a été excellente, nous avons trouvé presque les mêmes résultats, sauf pour le genre *Pseudomonas*, une souche a présenté un caractère discordant qui est la LDC+, ce qui est anormal car la souche type *Pseudomonas* ne possède pas cette décarboxylase et donc n'aurait pu scinder l'acide aminé présent dans le milieu.

L'explication que nous pouvons donner sur la positivité de ce caractère c'est que ce caractère biochimique (LDC+) inhabituel observé est un nouveau caractère acquis, et comme tous les caractères biochimiques représentant le phénotype reflétant donc le génotype, il est fort possible que ce caractère ait été transformé par une mutation.

j. Production d'oxydase

Ce test est un bon contrôle pour les bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, car elles sont toutes oxydases négatives, ainsi que pour le genre *Pseudomonas* qui est toujours oxydase positive. En réalisant ce test, nous avons obtenu des résultats conformes à ceux rapportés par **Le Minoretal.,1989 ; Dhayanithiet al., 2010.**

Les souches de *Pseudomonas* ont donné une réaction fortement positive par rapport au test d'oxydase. Cela est dû au fait qu'elles possèdent un cytochrome oxydase qui catalyse la réaction d'oxydation du cytochrome C par l'oxygène moléculaire.

k. Production de la catalase

Après avoir effectué le test catalase, toutes les souches d'entérobactéries que nous avons étudiées ont présenté un caractère catalase (+), ces résultats sont confirmés par la littérature (**Khan etal.,2011**).

De même pour l'espèce de *Pseudomonas*, nous avons observé une positivité du test catalase. Ce résultat est superposable à celui obtenu par **Nkangetal.,2009.**

Par contre les études de **Dhayanithi etal.,2010** ont montré que l'espèce de *Pseudomonas* peut donner une réponse négative au test catalase.

Et la catalase permet d'établir un diagnostic différentiel entre *Streptococcus* d'une part et *Staphylococcus*, *Micrococcus* d'autre part. L'absence de catalase constitue alors un caractère clef d'orientation vers les streptocoques.

L'identification des bactéries a été effectuée en comparant nos résultats avec ceux relevés sur des références de systématiques bactériennes (**Holt etal., 1994 ; Prescott et al., 2003 ; Joffinet al., 2006**).

II.2.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Entérobactéries*, des *Bacillus*, *Proteus mirabilis* et des *Pseudomonas*, des *Staphylocoques*, et des *Streptocoques* a permis d'obtenir les résultats suivants.

Toutes les souches que nous avons testées, leur comportement avec les antibiotiques diffère, selon les souches bactériennes analysées.

A /Résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

L'étude du profil de la résistance/sensibilité a été faite pour toutes les souches identifiées dont les résultats obtenus sont représentés dans le tableau X.

Tableau X : Résistance d'*E. Coli* aux antibiotiques

Antibiotiques	Souches		
	<i>E. Coli 1</i>	<i>E. Coli 2</i>	<i>E. Coli 3</i>
AM/ AMP	R	R	R
AX	R	R	R
AT	S	I	S
B	R	R	R
C	S	S	S
CRO	I	I	I
E	R	I	I
FA/ FC	R	R	R
IMP	S	S	S
L	R	R	R
MT/ MET	R	R	R
OF/ OFX	S	S	S
OX	R	R	R
P	R	R	R
PI	S	S	S
PT/ RP	I	I	I
S	S	R	S
VA	R	R	R
AK	S	S	S
GEN	S	S	S

D'après notre étude, les résultats obtenus montrent que 100% des souches testées d'*Escherichia coli* sont résistantes à l'AMPICILLINE, l'AMOXICILLINE, BACITRACINE, ACIDE FUSIDIQUE, LINOCOMYCINE, METRONIDAZOLE, OXACILLINE, PENICILLINE-G, et VANCOMYCINE, par contre elles sont sensibles aux, GENTAMYCINE, CHLORAMPHENICOL, IMIPENEM, OFLOXACINE, PIPERACILLINE, et AMIKACINE. En ce qui concerne les autres antibiotiques, nous observons qu'au sein de la même espèce et pour le même antibiotique il y a des souches qui présentent le phénotype sensible et d'autres présentent le phénotype résistant.

D'une manière générale, en prenant le cas de l'AMOXICILLINE, l'AMPICILLINE, nous remarquons que nos résultats sont conformes à ceux rapportés par **Davis *etal.*, 2011** ; **Ferjaniet *al.*, 2010**. Par contre dans le cas par exemple de la GENTAMYCINE, nos résultats présentent une discordance avec les résultats décrits par **Baker *etal.*, 2010** qui ont confirmé la résistance d'*Escherichia coli* à la GENTAMYCINE, alors que dans notre étude, nous avons trouvé que 100% des souches de cette espèce étaient sensibles.

F /Résistance des *Bacillus* aux antibiotiques

L'étude du profil antibiotique des *Bacillus* est donnée dans le tableau XI.

Tableau XI : Résistance des *Bacillus* aux antibiotiques

Antibiotiques	<i>Bacillus</i>
AM/ AMP	R
AX	R
C	S
E	S
L	S
MET	R
OX	R
P	R
PI	S
VA	I

Bacillus est résistant à l'AMPICILLINE, AMOXICILLINE, METRONIDAZOLE, OXACILLINE, PENICILLINE G selon (Archambaud et Clave, 2007).

B / Résistance de *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas* aux antibiotiques

L'étude du profil antibiotique de *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas* est donnée dans le tableau XII.

Tableau XII : Résistance de *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas* aux antibiotiques

Antibiotiques	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas</i>
AM/ AMP	R	R
AX	R	R
AT	R	R
B	R	R
C	S	S
CRO	R	S
E	I	R
FA/ FC	R	R
IMP	S	S
L	R	R
MT/ MET	R	R
OF/ OFX	S	S
OX	R	R
P	R	R
PI	S	S
PT/ RP	R	R
S	S	R
VA	R	R
AK	S	S
GEN	S	S

Proteus mirabilis a une résistance à AMPICILLINE, AMOXICILLINE, AZETRENAM, BACITRACINE, CEFTRIAXONE, ACIDE FUSIDIQUE, LINOCOMYCINE, METRONIDAZOLE, OXACILLINE, PENICILLINE-G, PRISTINAMYCINE, et VANCOMYCINE. Les autres antibiotiques testés sont habituellement actifs (CHLORAMPHENICOL, IMIPENEM, OFLOXACINE, PIPERACILLINE, STREPTOMYCINE, GENTAMICINE, et AMIKACINE).

Selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)

En ce qui concerne les souches de *Pseudomonas*, elles sont toutes résistantes aux antibiotiques testés dans notre travail, sauf pour la GENTAMYCINE, CEFTRIAXONE,

CHLORAMPHENICOL IMIPENEM, OFLOXACINE, PIPERACILLINE et AMIKACINE, certaines souches sont sensibles et d'autres sont résistantes. Selon **Avril *et al.*, 2000** ; **Susanaet *al.*, 2011**. Ces souches étaient de sensibilité intermédiaire ou résistante à l'AZETRENAM. Dans notre étude, ce qui concorde avec le résultat de Drissi *et al.* (**Drissi *et al.*, 2008**).

D /Résistance des *Staphylocoques* aux antibiotiques

L'étude du profil antibiotique des *Staphylocoques* est donnée dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Résistance des *Staphylocoques* aux antibiotiques

Antibiotiques	<i>Staphylocoques</i>	
	<i>Souche 1</i>	<i>Souche 2</i>
AM/ AMP	R	R
AX	R	R
AT	R	R
B	S	I
C	S	S
E	R	S
FA/ FC	I	S
GEN	S	S
IMP	S	S
L	S	S
MT/ MET	R	R
OF/ OFX	S	S
OX	R	S
P	R	I
PT/ RP	R	S
S	S	S
VA	S	S

Les souches étudiées ont présenté des taux élevés de résistance avec un pourcentage de 80% à l'égard de la PENICILLINE, et de 100% à AMPICILLINE, AMOXICILLINE, AZETRENAM, METRONIDAZOLE, ces résistances sont susceptibles de se développer dans l'espèce visée.

E /Résistance des *Streptocoques* aux antibiotiques

L'étude du profil antibiotique des *Streptocoques* est donnée dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Résistance des *Streptocoques* aux antibiotiques

Antibiotiques	<i>Streptocoques</i>
AM/ AMP	S
AX	S
C	S
E	S
FA/ FC	S
IMP	S
L	S
MT/ MET	S
OF/ OFX	S
OX	S
P	S
PI	S
VA	S
AK	S
GEN	S

Les *streptocoques* sont sensibles à l'AMPICILLINE, ainsi à tous les autres antibiotiques. La souche oppose une possible mais rare résistance "de haut niveau" aux aminosides en testant des disques fortement chargés en antibiotiques.

II.3. Résultats épidémiologiques

II.3.1. Taux de positivité des prélèvements

Les résultats des 30 prélèvements effectués durant notre travail sont donnés dans le tableau XV et la figure 4.

Tableau XV : Répartition de la présence des endométrites en post-partum

Résultats	Nombre de prélèvement	Taux (%)
Négatif	6	20%
Positif	24	80%
Total	30	100%

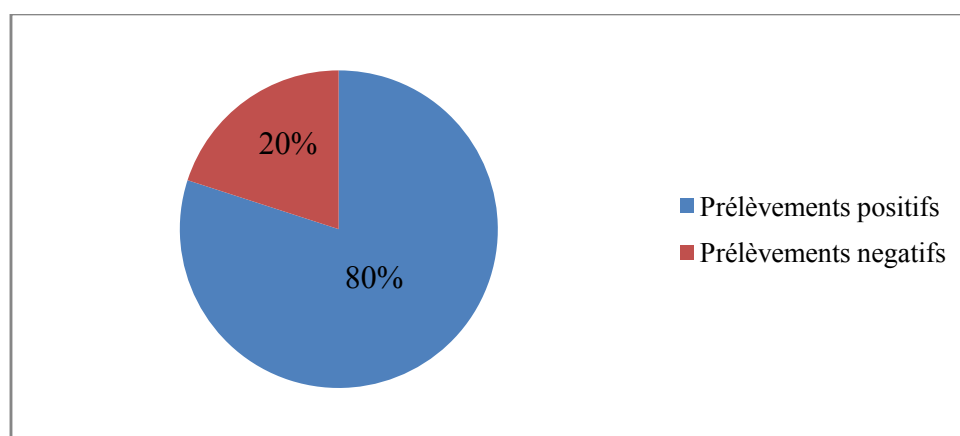


Figure 4 : Répartition de la présence des endométrites en post-partum

Dans notre étude 80% des prélèvements sont positifs, ce qui signifie la présence des endométrites post-partum dus aux complications post-partum. La rétention placentaire est le facteur de risque le plus important pour les endométrites du post-partum (**Azawi et al., 2007**). Et pour la persistance des endométrites clinique durant la période de reproduction (**Gautam et al., 2010**).

Dans notre étude, six prélèvements (20%) étaient bactériologiquement négatifs. Alors que selon **Westermann et al. (2010)**, ont trouvé 19,6% des cas dont aucune bactérie n'est isolée avoir l'absence de signes généraux, prélevées à j 21 et à j 27 post-partum.

III.3.2. Répartition des prélèvements selon le nombre des souches isolées

Afin d'isoler les souches bactériennes, tous les prélèvements ont étéensemencés dans 4 boîtes de pétri. Chaque boîte contient l'un des milieux suivants :

-Gélose nutritive, Gélose au sang frais, Chapman, Hektoen.

La répartition des prélèvements positifs en fonction du nombre des souches isolées est donnée dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Répartition des prélèvements positifs selon le nombre de souches isolées

Nombre de prélèvements	Nombre d'apparition des espèces bactériennes isolées
6	0
24	35

II.3.3. Répartition des bactéries responsables d'endométrites

La répartition des cas positifs en fonction des bactéries en cause est donnée dans le tableau XVII et la figure 5.

Tableau XVII : Répartition des bactéries responsables d'endométrites

Espèces bactériennes isolées	Cas	Taux (%)
<i>Bacillus sp.</i>	2	5.71
<i>Escherichia coli</i>	17	48.57
<i>Proteus mirabilis</i>	3	8.57
<i>Pseudomonas sp.</i>	2	5.71
<i>Serratia</i>	1	2.85
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	8.57
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	8.57
<i>Streptococcus α hémolytique</i>	3	8.57
<i>Streptococcus β hémolytique</i>	1	2.85
Total	35	100

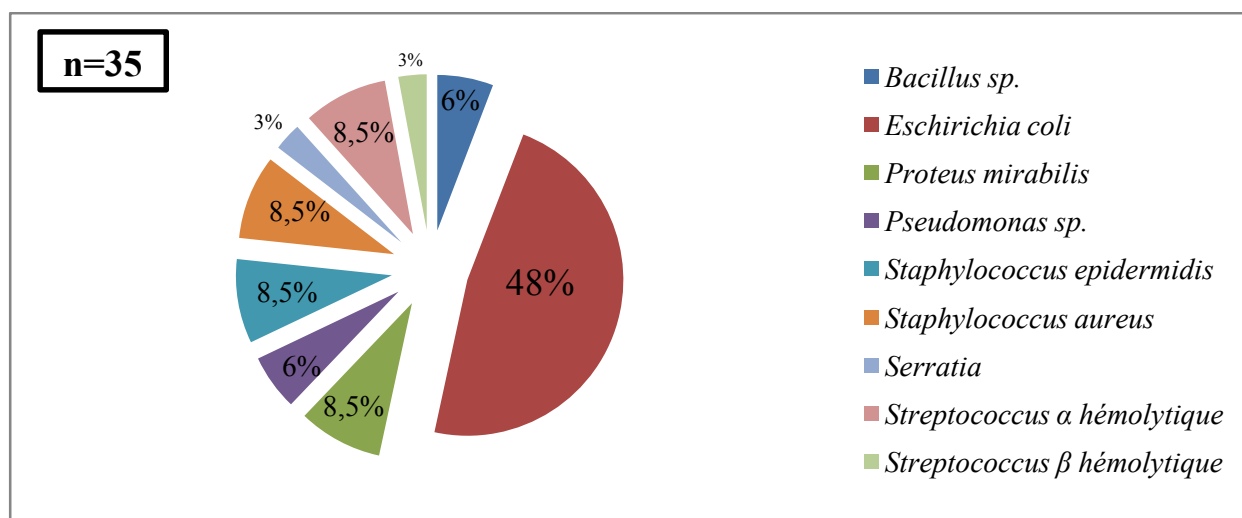


Figure 5 : Fréquence moyenne des bactéries isolées

Nous remarquons d'après les résultats ci-dessus que le taux d'*E. Coli* est très élevé avec 48%.

La composition de la flore bactérienne intra-utérine en post-partum est variée et propre à chaque animal, mais elle est dominée par *Escherichia coli* au moins dans les premiers jours suivant la parturition (**Azawi, 2008**).

8,5% pour *Streptococcus α hémolytique*, *Streptococcus β hémolytique*, *Staphylococcus aureus*, et *Staphylococcus epidermidis*

6% pour chacun de *Bacillus sp.* et *Pseudomonas sp.*

Et seulement 3% pour *Proteus mirabilis* et *Serratia*.

Au moment du vêlage, alors que le col se dilate pour permettre le passage du veau, les barrières anatomiques naturelles composées de la vulve, du vagin et du col sont abolies, favorisant la colonisation des voies génitales par des bactéries en provenance de l'environnement, de la région périnéale, de la peau et des fèces de l'animal. (**Paisley et al., 1986 ; Williams et al., 2008**)

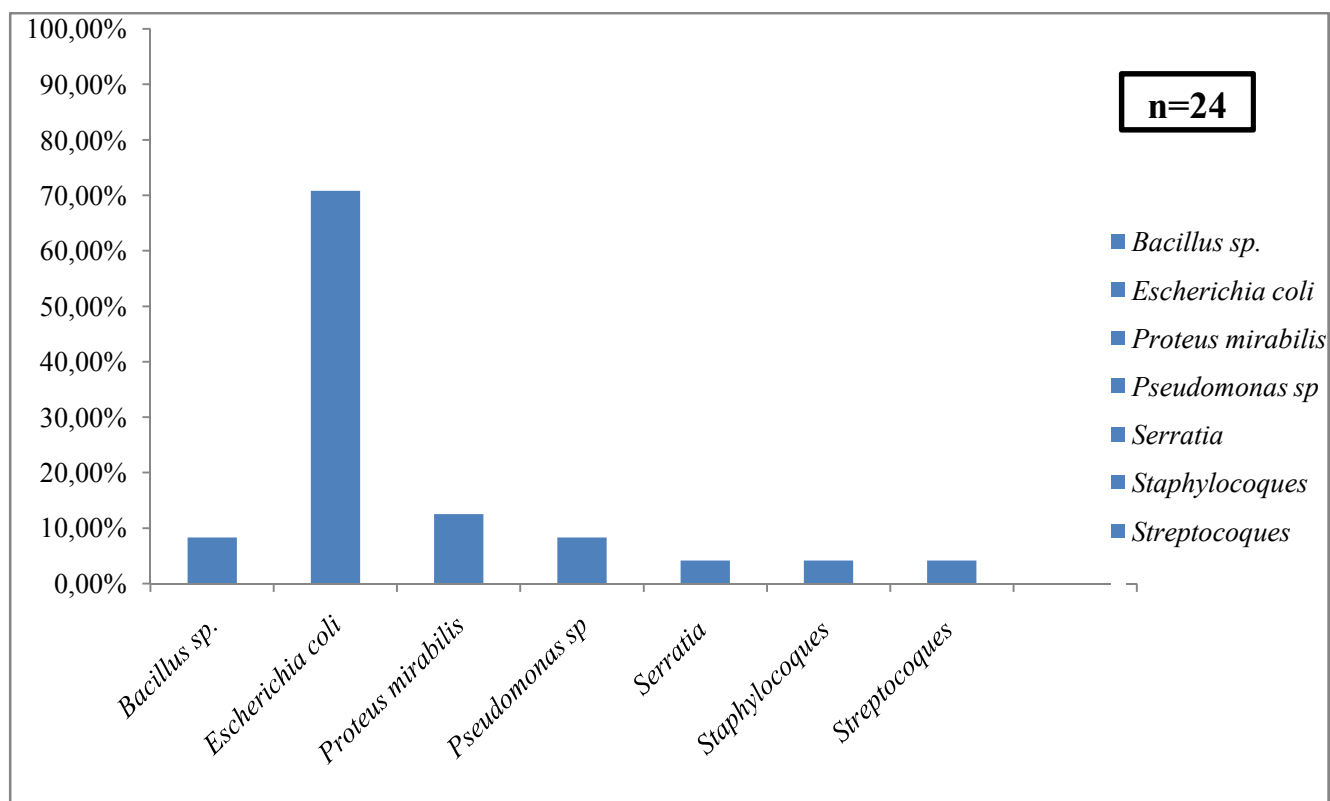


Figure 6 : Fréquence d'isolement des bactéries selon le nombre total des prélèvements positifs

Dans notre étude 24 prélèvements étaient positifs avec un taux de 70,83% pour *E. Coli*, de 25% pour *Staphylocoques*, de 16,67 % pour *Streptocoques*, de 12,5% pour *Proteus mirabilis*, de 8,33% pour *Bacillus sp.* et *Pseudomonas sp.* et 4,17% pour *Serratia*.

Dans l'étude de **Dohman**, les prélèvements étaient positifs avec les taux suivants : 65% pour *E. Coli*, 21% pour *Streptocoques*. Un taux global de 9% pour *Proteus mirabilis*, *Bacillus sp.*, *Staphylocoques*, et *Pseudomonas sp.* (**Dohmen et al., 2000**).

Les résultats publiés par **Dohman** sont confirmés par d'autres études comme celles faites en 1991 par **Bonnett** et ses collaborateurs (**Bonnett et al., 1991**).

II.3.4. Répartition des prélèvements positifs selon le délai post-partum

La figure 7 présente la répartition des prélèvements positifs selon le délai post-partum.

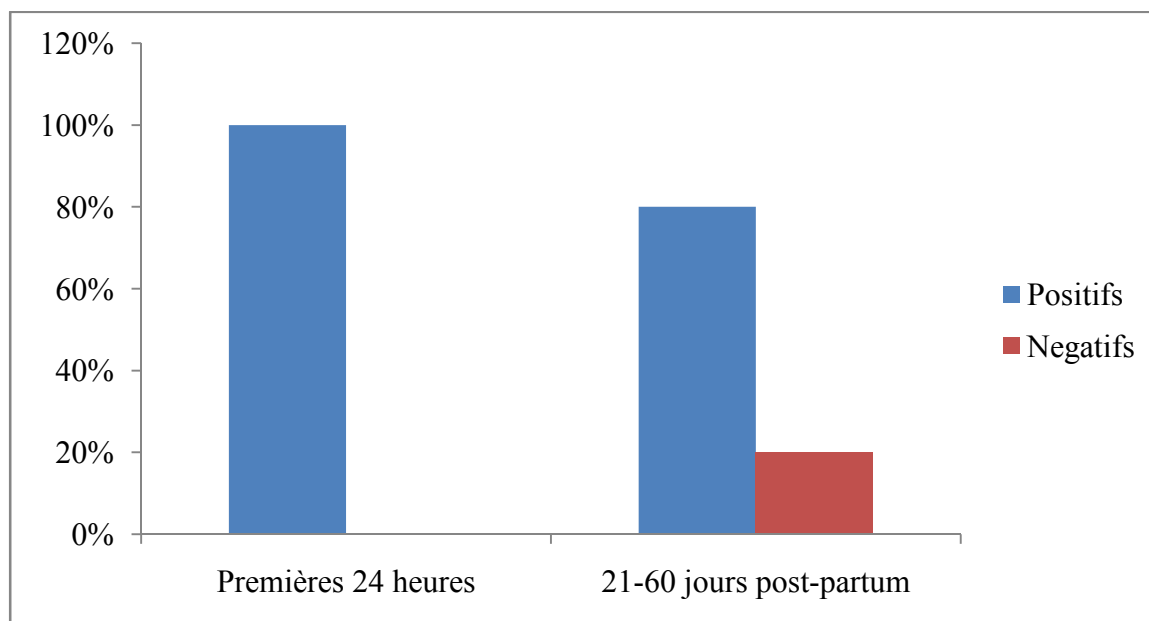


Figure 7 : Répartition des prélèvements positifs selon le délai post-partum

Les résultats obtenus dans notre enquête montrent que les types des métrites aigues sont apparus dans 100% de cas, et 80% de cas d'endométrites rencontrées sur le terrain sont des endométrites qui apparaissent dans la période de 21 à 60 jours post-partum. Notre résultat est correspondant à celui retrouvé en France **Duverger (1992)**.

Le délai post-partum se révèle être un paramètre important dans les endométrites bactériennes.

II.3.5. Répartition des bactéries isolées selon le délai post-partum

Les analyses des échantillons prélevés de vaches présentant des endométrites durant les premières 24h ainsi que de celles présentant des endométrites ne dépassant pas les 60 jours post-partum sont présentées dans le tableau XVIII

Tableau XVIII: Répartition des bactéries isolées selon le délai post-partum

Délai post-partum Espèces bactériennes	Pendant les premières 24 heures (n=15)		Entre 21 et 60 jours post-partum (n=20)	
	Cas	%	Cas	%
<i>Bacillus sp.</i>	0	0	2	10
<i>Escherichia coli</i>	9	60	8	40
<i>Proteus mirabilis</i>	1	6,67	2	10
<i>Pseudomonas sp.</i>	0	0	2	10
<i>Serratia</i>	1	6,67	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	6,67	2	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	6,67	2	10
<i>Streptococcus α hémolytique</i>	1	6,67	2	10
<i>Streptococcus β hémolytique</i>	1	6,67	0	0
Total	15	100	20	100

Nos résultats pourraient être spécialement comparées aux résultats obtenus par **Dohman et al., 1995** ; dans lesquelles les mêmes paramètres d'études ont été pris en considération à savoir le délai post-partum et qui confirment que ces fréquences (%) d'isolement de germes se présentent chez des vaches atteintes d'endométrites.

Par ailleurs, d'autres études faites dans le même domaine par (**Bonnett et al., 1991** ; **Westermann et al., 2010** ; **Williams et al., 2005**).

II.3.5.1. Répartition des bactéries isolées pendant les premières 24 heures

La répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées pendant les premières 24 heures sont présentés dans la figure 8.

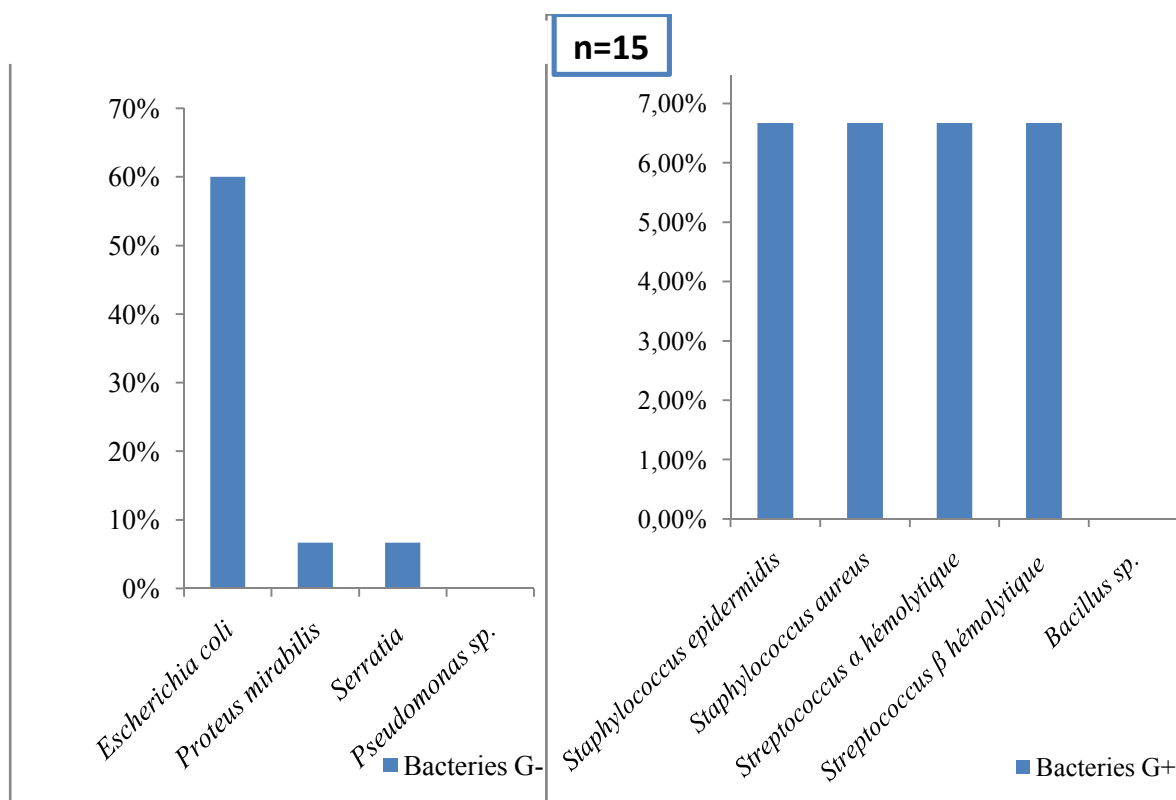


Figure 8 : Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées pendant les premières 24 heures

Les résultats montrent que pendant les premières 24 heures les bactéries Gram négatif qui ont été isolées sont :

E. Coli avec 60% cette valeur est conforme à celle donnée par **Dohman et al., 1995**.

Et 6,67% pour toutes les bactéries suivantes *Proteus mirabilis*, et *Serratia*, ces valeurs sont conformes aux normes.

Et un pourcentage de 6,67% pour toutes les bactéries Gram positif.

La flore bactérienne intra-utérine post-partum se compose de germes saprophytes et pathogènes, Gram-positifs et Gram négatifs en quantités équivalentes (**Hussain et al., 1990**),

Cela explique que dans les premières 24 heures les vaches sont atteintes de métrites aiguës.

II.3.5.2. Répartition des bactéries isolées entre 21 et 60 jours post-partum

La répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées entre 21 et 60 jours post-partum sont présentés dans la figure 9

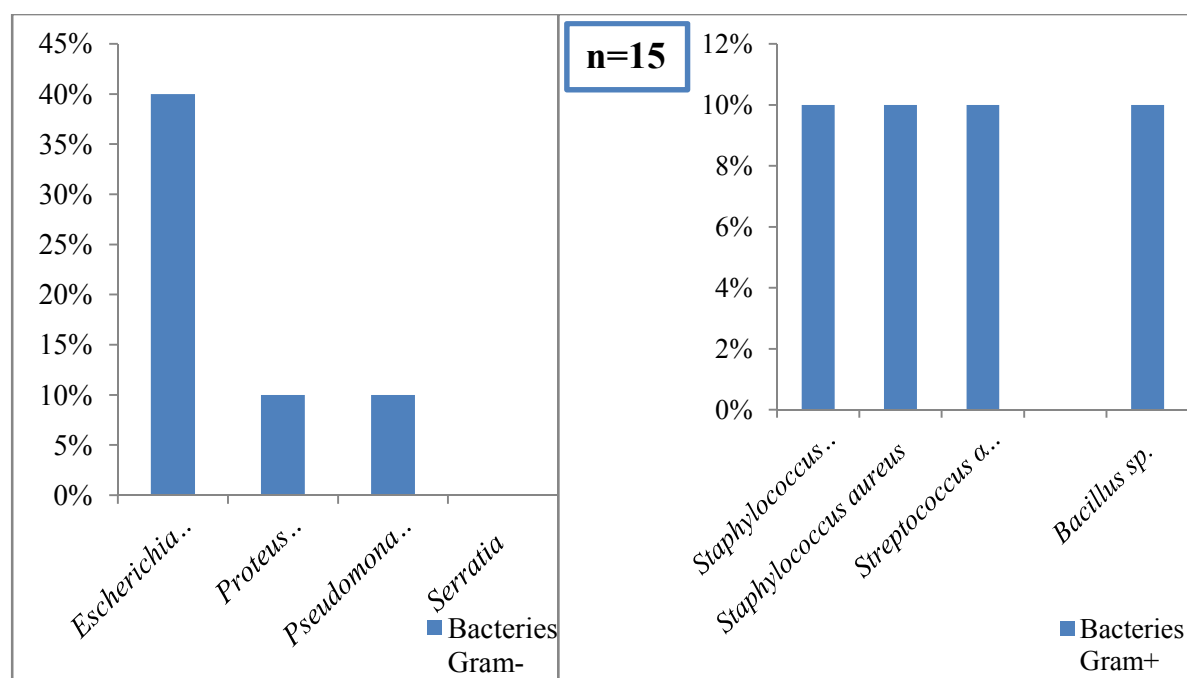


Figure 9 : Répartition des bactéries Gram négatif et Gram positif isolées entre 21 et 60 jours post-partum

Les résultats montrent que entre 21 et 60 jours post-partum les bactéries qui ont été isolées sont :

E. Coli avec 40%, et 10% pour toutes les souches suivantes *Proteus mirabilis*, et *Pseudomonas sp.* Ainsi pour toutes les bactéries Gram positif.

Toutes les valeurs répondent aux normes exigées par **Dohman (1995)** pour les bactéries Gram négatifs et Gram positifs.

A l'issue de ces résultats, on peut dire que les vaches étudiées entre 21 et 60 jours post-partum ont des endométrites bactériologiques.

Conclusion

L'objectif de ce travail consistait à :

- Tenter d'améliorer le diagnostic des endométrites post-partum chez les vaches laitières par rapport à ce que permettent les techniques bactériologiques.
- Nous avons testé l'intérêt d'analyses bactériologiques de prélèvements vaginaux.
- étudier les effets des endométrites sur l'infertilité, l'infécondité, et sur les performances de reproduction chez la vache laitière

Cet objectif a donc été rempli, puisque nous avons montré que des tests simples, réalisables permettent de détecter plus ou moins finement des vaches présentant une inflammation génitale voire plus spécifiquement des vaches à endométrite.

Cette étude a été réalisée en forte interaction avec les milieux professionnels :

Les prélèvements ont été réalisés à l'institut d'élevage de Baba-Ali, et ils ont été conduits au laboratoire d'hygiène de Blida pour réaliser les examens bactériologiques.

Le délai post-partum se révèle aussi être un paramètre important en ce qui concerne les endométrites bactériennes, dans notre travail les prélèvements en été effectués dans les premières 24 heures et entre 21 et 60 jours post-partum.

Dans cette étude toutes les vaches sont prélevées, sans prendre en considération qu'elles présentent ou non les symptômes cliniques d'une pathologie utérine.

Les résultats de l'étude ont permis de constater que 100% de cas étaient positifs dans les premières 24 heures qui suivent le vêlage et 80% de cas étaient positifs entre 21 et 60 jours post-partum.

L'examen bactériologique permet de confirmer la présence ou non de germes dans l'utérus.

Si le germe est effectivement absent : une inflammation de l'utérus pourrait avoir lieu sans infection. Selon **Hanzen (2009)**. Un germe ne pourra être rendu responsable d'une endométrite que s'il est reconnu pour sa pathogénicité utérine, s'il est retrouvé plusieurs fois sur le même animal et s'il s'accompagne de lésions histologiques de l'endomètre.

Fréquence moyenne des bactéries isolées est de : 48,57% de *E. Coli*, 8,5% pour *Streptococcus α*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, et *Streptococcus β hémolytique*, 6% de *Bacillus* et *Pseudomonas*, et 3% pour *Proteus mirabilis*, et *Serratia*.

Toutes les souches isolées à partir des prélèvements ont été identifiées selon l'observation microscopique, et sur la base de leurs caractères biochimiques, leur sensibilité aux antibiotiques.

A partir des profils antibiotiques effectués, on a pu aussi noter plusieurs résistances des souches isolées vis-à-vis d'antibiotiques utilisés habituellement. A titre d'exemple, 100% des souches bactériennes isolées étaient résistantes à l'AMPICILLINE, l'AMOXICILLINE sauf pour les *Streptocoques* qui ont été sensibles à tous les antibiotiques.

De ce fait il est recommandé de :

- Réaliser une analyse bactériologique devant tout vêlage à la recherche des agents causals d'endométrites post-partum, chez les vaches laitières.
- Réaliser un antibiogramme pour toutes bactéries pathogènes isolées de l'analyse afin de déterminer les résistances aux antibiotiques.
- Renforcer l'hygiène notamment dans les étables afin d'éviter des épidémies d'endométrites.

Liste des références

- **Alves M.S., Rubens C.S.D., De Castro A.C.D., Riley L.W., Moreira B.M. (2006).** Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *Journal of clinical microbiology*. **44** (10) : 3640-3646.
- **Amokrane A (2003).** Contribution à l'étude des métrites de la vache laitière, mémoire de magistère, université Saad dahleb Blida.
- **Aouati, H. (2009).** isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistances à la méthicillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, Algérie: thèse N° : 006 / SN /2009.
- **Archambaud Maryse, Clave Danielle. (2004).** Laboratoire de Bactériologie Hygiène. CHU Toulouse Rangueil. 1-4.
- **Archbald L.F., Scultz R.H., Fhaning M.L., Kurtz H.J., Zemjanis R. (1972).** A sequential histological study of the prepartum bovine uterus. *J Repro Fert.*, **29**, 133-6.
- **Avril J-L., Dabernat H., Denis F. (2000).** Bactériologie Clinique. Ellipses. 601.p.
- **Azawi OI. (2008)** Postpartum uterine infection in cattle: A review. *Anim Reprod. Sci.*, **105**, 187-208.
- **Azawi, O.I., Omran, S.N. Hadad, J.J. (2007).** Clinical, bacteriological, and histopathological study of toxic puerperal metritis in Iraqi Buffalo. *J. Dairy Sci.* **90** : 4654-4660.
- **Badinand F. (1975)** Les métrites chez la vache : influence des facteurs hormonaux et nutritionnels. *Cah. Méd. Vet.*, **44**, 205-221.
- **Banks WJ., 1993.** Female reproductive system. In : Applied veterinary histology. 3rd ed. St Louis: Mosby-Year book, Inc, 452-457.
- **Baril G, Cognie Y, Freitas VJF, Maurel MC, Mermillod P (1993)** - Maîtrise du moment de l'ovulation et aptitude au développement de l'embryon chez les ruminants – RencRech Ruminants, **5** : 57-62

- **Barker I.K., Allen S.E., Boerlin P., Janecko N., Lumsden J.S., Pearl D.L. (2010).**AntimicrobialResistance in Generic*Escherichia coli* Isolatesfrom Wild Small Mammals Living in SwineFarm, Residential, Landfill, and Natural Environments in Southern Ontario, Canada. *Applied and EnvironmentalMicrobiology*. **77** : 882-888.
- **Barone R. (1990)** Anatomie comparée des mammifères domestiques, tome 4, splanchnologie II, *vigot*, 268-447, Lyon.
- **Batellier., Florence., Blesbois., Elisabeth., (2005).** Reproduction des animaux d'élevage. 2^{éd}*Educagri Paris*. 18, 19,66.
- **Berche P., Gaillard J.L., Simonet M. (1988).** Bactéries des infections humaines. Flammarion Médecine-Sciences. p. 100-545.
- **Bocquier, S. (2013).***Documentation technique: étude de la sensibilité auxantimicrobiens*. Grenoble: lycée des métiers du tertiaire, de la santé et du social,Louise Michel
- **BoichardD, Barbat A, Briend M. (2002).** Evaluation génétique des caractères de fertilité femelle chez les bovins laitiers. 5^{èmes} Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. Paris, 5 décembre, 103-106.
- **Bondurant R.H. (1999).** Animal Health 2 : Inflammation and Animal Health. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J AnimSci.*, **77** Suppl 2, 101-10.
- **Bonnett B.N., Miller R., Gannon V.P., Miller R.B., Etherington W.G. (1991c)**Endometrialbiopsy in Holstein-Friesiandairycows III. Bacteriologicalanalysis and correlationswithhistologicalfindings. *Can J VetRes.*, 55(2), 168-73.
- **Bonnett, B.N., Miller, R., Gannon, V.P., Miller, R.B., Etherington WG. (1991).** Endometrialbiopsy in Holstein-Friesiandairycows III. Bacteriologicalanalysis and correlationswithhistologicalfindings. *Can J VetRes.*, 55(2), 168-78.
- **Bonnett B.N., Miller R., Martin S.W., Etherington W.G., Buckrell B.C. (1991b)**Endometrialbiopsy in Holstein-Friesiandairycows II. Correlationsbetweenhistologicalcriteria. *Can J VetRes.*, 55(2), 162-7.
- Boutoille,D., Jacqueline,C., Le,M., V, Potel,G., and Caillon,J. (2009) In vivo impact of the MexAB-OprM efflux system on beta-lactamefficacy in an experimental model of *Pseudomonas aeruginosa*infection. *Int J Antimicrob Agents* **33**: 417-420.
- **Catherine A.M., Robert B. (1999).**Genomicrearrangements in the flagellingenesis of *Proteus mirabilis*. *MolecularMicrobiology*. **31** (2) : 679–690.

- **Chaala, W. (2013).** Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolée de produits alimentaires. université d'Es-senia Oran, Algérie.
- **Chevallier A, Humblot P (1998)-** Evaluation des taux de non-retour après insémination artificielle : effet du contrôle du délai de mise à la reproduction sur les résultats de fertilité – Renc,Rech Ruminants, ; 5 : 75-77
- **Christian Dudouet., (2010).** La production des bovins allaitants, 3^éédition Paris : *France agricole*.85.
- **Coleman DA, Thayne WV, and Dailey RA, (1985).** Factors affecting reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci*;68 (7): 1793-1803.
- **Correa MT, Curtis CR, Erb HN, Scarlett JM, Smith RD(1990).** An ecological analysis of risk factors for postpartum disorders of Holstein-Friesian cows from thirty-two New-York farms. *J.Dairy Sci*, 73:1515-1524.
- **Curtis C.R., Erb H.N., Sniffen C.J., Smith R.D., Kronfeld D.S. (1985)** Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J Dairy Sci.*, **68**, 2347-2360.
- **D'Acremont V., Genton B. (2006).** Diarrhée des voyageurs : résistance aux antibiotiques. *Revue Médicale Suisse*. 2 : 33-122.
- **Davis J.A., Jackson C.R., Fedorka-Cray P.J., Barrett J.B., Brousse J.H., Gustafson J. (2011).** Anatomical distribution and genetic relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from healthy companion animals. *Journal of Applied Microbiology*. **110** (2) : 597-604.
- **Deletang F., (2004).** Rappels d'anatomie et de physiologie. PRID, Edition Sanofi Santé Animale, 9-16.
- **Dellarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. France. Lavoisier. 462 p.
- **Denis F. et Ploy M.-C. (2007).** Bactériologie médicale: techniques usuelles. Elsevier Masson. p 316-318.
- **Denis F., Martin C., Ploy M.C., Bringen E. & Quentin. (2007).** « Bactériologie médicale Techniques usuelles ». Edition Elsevier
- **Derivaux J., (1971).** Reproduction chez les animaux domestiques. Tome 1 et 2 Editions Dérivaux. Liège ; T1: 157, T2 : 175.

- **Derivaux J., (1981).** La rétention placentaire et les affections utérines du post-partum. *In* :Constantin A, Meissonnier E, editors. *L'utérus de la vache*. Société Française de Buïatrie,Toulouse, 301-329.
- **Derivaux J, Ectors F (1985)-** Reproduction chez les animales domestiques - 3èmes éditions revue.Louvain-La-Neuve : Cabay, 1141 p.
- **Djelouat S. (2008).** Les entérobactéries : généralité. Laboratoire d'analyse médicale bactériologique. Version 6. 32-43.
- **Djelouat S. (2009).** Les entérobactéries : L'essentiel. [En ligne]. <http://knol.google.com/k/salim-djelouat/mes-knols>. (Consulté le 16 Mai 2011).
- **Dhayanithi N.B., AjithKumar T.T., Kathiresan K. (2010).**Effect of neemextractagainst the bacteriaisolatedfrom marine fish. *Journal of EnvironmentalBiology*. **31** : 409-412.
- **Dobson H, Rankin JEF, Ward WR(2007).** Bovine cysticovariandisease: plasma hormone concentrations and treatment. *Vet.Rec.*, 101:459-461.
- **Dohmen M.J., Joop K., Sturk A., Bols P.E., Lohuis J.A. (2000)** Relationship betweenintrauterinebacterial contamination, endotoxinlevels and the development of endometritis in postpartum cowswithdystocia or retained placenta. *Theriogenology*, **54**, 1019-32.
- **Dohmen M.J., Loohuis J., Huszenicsa G., Nagy P., Gacs M. (1995)** The relationshipbetweenbacteriological and clinicalfindings in cowswithsubacute/chronicendometritis. *Theriogenology*,**43**, 1379-88.
- **Dohoo IR, (1983).**The effects of calving to first service interval on reproductive performance in normal cows and cowswithpostpartaldisease. *Can.Vet.J.*.,24:343-346.
- **Drissi,M., Ahmed,Z.B., Dehecq,B., Bakour,R., Plesiat,P., and Hocquet,D. (2008)**Antibioticsusceptibility and mechanisms of beta-lactamresistanceamongclinicalstrains of *Pseudomonas aeruginosa*: first report in Algeria. *Med Mal Infect* **38**: 187-191.
- **Dumoulin D. (2004)** Pathologie utérine de la vache, depuis les oviductes jusqu'au col. ThèseDoctVet Lyon, 86.
- **Duverger s. O. (1992)** Les métrites bovines en France résultat d'une enquête épidémiologique. Th. Doctorat Vétérinaire, ENV Alfort. 1992, 70 P.

- **Edqvist L.E., Kindahl H., Stabenfeldt G. (1978)** Release of prostaglandin F2alpha during the bovine peripartalperiod. *Prostaglandins*, **16**(1), 111-9.
- **El Kouir, D. P. (2003).** Infections à *Staphylocoques* : aspects cliniques et bactériologiques. *EMC, maladies infectieuses*, [8-007-A-10].
- **Ellington JE., (1991).** The bovine oviduct and its role in reproduction: a review of the literature. *Comell Vet*; **81**: 313-328.
- **Elliott L., McMahon K.J., Gier H.T., Marion G.B. (1968)** Uterus of the cow after parturition : bacterial content. *Am J Vet Res.*, **29**, 77-81.
- **Erb HN, Grohn YT. (1988)** Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.*, **71**, 2557-2571.
- **Ferjani A., Mkaddemi H., Tilouche S., Marzouk M., Hannechi N., Boughammoura L. (2010).** Caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes isolées dans un milieu pédiatrique. *Archives de Pédiatrie*. **18** (2) : 230- 234.
- **Fourichon C., Bareille N., Malher X. (2004)** Fréquence et conséquence des métrites. *L'action vétérinaire*, 2-6.
- **Gaillot O, (2008).** Identification des entérobactéries : a review. *J. Appl. Microbiol.* **99** : 223-229.
- **Gaudy C. (2005).** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier. Amsterdam. 269 p.
- **Gautam G, Nakao T, Yusuf M, Koike K. (2009).** Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two Japanese dairy herds. *Anim Reprod Sci.* **116**, 175-187.
- **Gautam G., Nakao T., Koike K., Long S.T., Yusuf M. (2010).** Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology* **73**. 168-179.
- **Gier HT, Marion GB. (1968)** Uterus of the cow after parturition : involutional changes. *Am. J. Vet. Res.* , **29**, 83-95.
- **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.

- **Gsell G. (1979)** *Physiopathologie de l'involution utérine chez la vache*. TheseMed.Vet., Lyon, 57p.
- **Guillaume P.R. (2004)**. Microbiologie pierre_Yves. guillaume@laposte.net.
- **Hajna A.A. (1945)**. Triple SugarIron Medium for the Identification of the Intestinal groups of Bacteria. *J. Bact.* **49** : 516-517.
- **Hanzen, Ch. (2009)**. Les infections utérines des ruminants. Cours.
- **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. (1994)**. Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore. 787 p.
- **Huszenicza G., Fodor M., Gacs M., Kulcsar M. (1999)** Uterine bacteriology, resumption of cyclovovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scaled dairy herds. *Reprod. Dom. Anim.*, **34**, 237-245.
- **Joffin J.N., Leyrol G. (2006)**. Microbiologie technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux : CRDP d'aquitaine. 363 p.
- **Joffin Jean-Noel et Leyal Guy. (2001)**. Microbiologie Technique 1 Dictionnaire des Techniques, 3eme édition, cndp d'Aquitaine.
- **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.
- **Kawamura Y, While RA, Shu SE, Ezaki T, Hardie JM (1999)**. Genetic approaches to the identification of the mitis group within the genus *Streptococcus*. *Microbiology*; 145:2605-2613.
- **Kennedy TG, Muller RB. (1993)** the female genital system. In : Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, editors. *Pathology of domestic animals*. 4th ed., San Diego : Academic Press. 378-87.
- **Keri L.B., Amy E.W., John R.W., Sookie S.B. (2002)**. Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation. *Journal of Biotechnology*. **93** (2) : 171-181.
- **Khan F., Rizvi M., Shukla I., Malik A. (2011)**. A novel approach for identification of members of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical samples. *Biology and Medicine*. **3** (2) : 313-319.

- **Leblanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Batman K.G., Keefe G.P., Walton N J.S., Johnson W.H. (2002)** Defining and diagnosing postpartum clinical endometritides and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85(9), 2223-2236.
- **Leblanc S.J., Lissemore K.D., Kelton D.F., Duffield T.F. (2006)** Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J Dairy Sci.*, **89**, 1267-1279.
- **Le Mezec P, Barbat A, Duclos D (2008)-** Fertilité des vaches laitières : la situation dans 4 coopératives d'insémination de l'Ouest. *RencRech Ruminants*, (sous presse)
- **Le Minor Leon – Veron Michel (1982).** (Dir.) « Bactériologie médicale. » publiée par éditions Flammarion.
- **Le Minor L., Veron M. (1989).** Bactériologie Médicale. *Flam Med. Science*. **333** : 773-823.
- **Lewis G.S. (1997)** Health problems of the postpartum cow. Uterine health and disorders (symposium). *J. Dairy Sci.*, 80(5), 984-94.
- **Lin CY, McAllister AJ, Batra TR, Lee AJ, Roy GL, Vesely JA, Wauthy JM, Winter KA, (1986).** Production and reproduction of early and late bred dairy heifers. *J.Dairy Sci.*, 69:760-768.
- **Lucy MC (2000)-** Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle - *J Dairy Sci*; 83 : 1635-1647
- **Marchal N, Bourdon S.L, Richard S.L, (1991)** ; les milieux de culture ; pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Dion éditeurs, P65-149.
- **Marien D, (1993).** La dynamique folliculaire chez les bovins .Apports du suivi échographique. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon, 139.
- **Martal, J. (1981).** Régulation endocrinienne du corps jaune. In l'Utérus de la Vache, pp. 79-100. Eds A. Constantin et E. Meissonnier. E.N.V.A. Maison-Alfort.
- **Matsen J.M, Pallent L.J, Hugo W.B, Grant D.J.W, Davies A, (1972).** *Pseudomonas cepacia* as contaminant and infective agent. *Journal of Hospital Infection*. Volume 4. Issue 1. March 1983, Page 9-13.
- **Mee J. (2007)** Un nouvel outil pour diagnostiquer l'endométrite. *Le Point Vet.*, **274**, 14-15.

- **Menge AC, Mares SE, Tyler WJ, Casida LE (1962).** Variation and association among postpartum reproduction and production characteristics in Holstein-Friesian cattle. *J.DairySci*, 45:233-241.
- **Miller H.V., Kimsey P., Kendrick J.W., Darien B., Doering L., Franti C., Horton J. (1980)** Endometritis of dairy cattle : diagnosis, treatment, and fertility. *Bovine Pract.*, 15, 13-23.
- **Nkang AO, Okonko IO, Mejeha OK, (2009)** Assessment of antibiotic susceptibility profiles of some selected clinical isolates from laboratories in Nigeria. *J Microbiol Antimicrobi*, 1 : 1-5.
- **Olson J.D., Ball L., Mortimer R.G., Farin P.W., Adney W.S., Huffman E.M. (1986)** Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Am Vet Res.*, 45, 2251-5.
- **Opsomer G, Grohn YT, Hertl J, CORYN M, DELUYKER H, DE KRUIF A. (2000).** Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium : a field study. *Theriogenology*, 53, 841-857.
- **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.
- **Parker CW. Mediators: release and function. In: Paul WE, (2003) (Ed).** Fundamental Immunology. Raven Press, New York, 697-750.
- **Phibbs P., McCowen S., Feary T., Blevins W. (1978).** Mannitol and Fructose Catabolic Pathways of *Pseudomonas aeruginosa* Carbohydrate-Negative Mutants and Pleiotropic Effects of Certain Enzyme Deficiencies. *J. Bacteriol.* 133 (2) : 717-728.
- **Philipot JM, Pigere M, Bourges A, Trou G, Disenhaus C (2001)-** Pratiques d'élevage et délai de mise à la reproduction des vaches laitières en période de stabulation hivernale – RencRech Ruminants, Paris (France); 8 : 353-356
- **Philippon A. (2007).** Cours de bactériologie médicale. Faculté de médecine Cochin-Port-Royal., 150-155.
- **Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N. and Balbastre C. (1981).** Bactériologie médicales et vétérinaire. Biologie appliquée. ISBN 2-7040-0362-9.
- **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2003).** Microbiologie. 2ème édition. Boeck Université. 1099 p.

- **Priedkalns et Leiser., (1998).** Female reproductive system. *In* : DELLMANN H., EURELL J. *Textbook of veterinary histology*. Baltimore, Williams and Wilkins, 247-269.
- **Prischmann A.D., Lehman R.M., Christie A.A., Dashiell K.E. (2008).** Characterization of bacteria isolated from maize roots: Emphasis on *Serratia* and infestation with corn rootworms (Chrysomelidae: Diabrotica). *Applied soil ecology*. **40** : 417-431.
- **Radostits OM, Blood DC (1985).** Dairy cattle General approach to a program. In " *Herd Health* ", pp 48-65. WB Saunders Company.
- **Rahman M.M., Akhter S., Mahm J., Pandeya D.R., Haque M.A., Alam M.F. (2010).** Control of coliform bacteria detected from diarrhea associated patients by extracts of *Moringa oleifera*. *Nepal Med Coll J*. **12** (1) : 12-19.
- **Recorbet Y, (1987)** biopsie de l'endomètre au cours du post partum pathologique chez la vache. Thèse Med-vet Alfort, 97 79.
- **Richard C. and Proskauer V. (1978).** Méthode rapide pour l'étude de rouge de méthyle. *Ann. Inst. Past*-122 : 979-986.
- **Sahl HG, Brotz H, Bierbaum G, Reynolds PE, (1995).** Mode of action of the lantibiotic mersacidin : inhibition of peptidoglycan biosynthesis via a novel mechanism. *Antimicrob Agent Chemother*, 39(3) : 714-9.
- **Schoenaers and Kaeckenbeeck. (1973).** Précis de microbiologie vétérinaire, Ed. Derouaux, 30-38.
- **Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. (2009)** Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.*, **81**, 1025-1032.
- **Sheldon IM, Dobson H. (2004)** The postpartum uterus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, **20**, 569-591.
- **Sheldon I M, Lewis G Leblanc S, Gilber RO, (2006)** Defining post partum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65 (8) 1516-30.
- **Sheldon I.M., Noakes D.E. (1998)** Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Vet. Rec.*, 142, 575-9. Wu et al études bibliographiques des métrites chroniques chez la vache présenté par Watellier Pierre 22 juin 2010 Lyon.

- **Sheldon I.M., Noakes D.E., Rycroft A.N., Dobson H. (2003)** The effect on intrataurine administration of oestradiol on postpartum uterine involution in cattle. *Theriogenology*, **59**, 1357-71.
- **Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. (2002)** Influence of uterinebacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicleselection and folliclegrowth and function in cattle. *Reproduction.*, **123**, 837-845.
- **Sheldon IM, Rycroft AN, Dogan B, Craven M, Bromfield JJ, Chandler A, Roberts MH, Price SB, Gilbert RO, Simpson KW. (2010)** Specificstrains of *Escherichia coli* are Singh J, Murray RD, Mshelia G, Woldehiwet Z. (2008) The immune status of the bovine uterusduring the peripartumperiod. *Vet. J.*, **175**, 301-309.
- **Singh J, Murray RD, Mshelia G, Woldhiwet Z. (2008)** The immune status of the bovine uterusduring the peripartumperiod. *Vet. J.*, **175**, 301-309.
- **Singleton Paul, (2005).** Bactériologie. Sixième Edition. DUNOD, P440, 480, 482, 483, 489, 490.
- **Soomro A.H., Arain M.A., Khaskheli M., Bhutto B. (2002).** Isolation of *Escherichia Coli* fromrawmilk and milkproducts in relation to public healthsoldundermarket conditions atTandojam. *Journal of Nutrition.* **1** (3) : 151-152.
- **Stevenson JS, Call EP, (1983).** Influence of earlyestrus, ovulation and insemination on fertility in postpartum Holstein cows. *Theriogenology*,**19**:367-375.
- **Studer E., Morrow D.A. (1978)** Postpartum evaluation of bovine reproductive potential : comparison of findingsfromgenital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrialbiopsy. *J Am Vet Med Assoc.*, **172**, 489-94.
- **Susana S., Bostjan J., Roman J., Ignacio M., Mirian F., José L., (2011).** Structural FeaturesGoverning the Activity of Lactoferricin-Derived Peptides That Act in SynergywithAntibioticsagainst*Pseudomonas aeruginosa* *In Vitro* and *In Vivo*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **55** (1) : 218-228.
- **Sylla M.B. (2005).** Infections invasives à *Escherichia coli* dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré Bamako. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 58 p.
- **Tariq A.L., Prabakaran J.J. (2010).**MolecularCharacterization of Psychrotrophic*Serratiamarcescens* TS1 Isolatedfrom Apple Garden atBadranKashmir. *Journal of Agriculture and Biological Sciences.* **6** (3) : 364-369.

- **Thatcher WW, Wilcox CJ, (1973).** Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairycow. *J.DairySci.* 56:608-610.
- **Tillard E, Humblot P, Faye B (2003)-** Impact des déséquilibres énergétiques *postpartum* sur la fécondité des vaches laitières à la Réunion - *RencRech Ruminants*, 10 : 127-130
- **Tillard E, Lanot F, Bigot CE, Nabeneza S, Pelot J (1999)–** Les performances dereproduction en élevages laitiers - In : CIRAD-EMVT. 20 ans d'élevage à la Réunion. Ile de laRéunion : Repères. 99pp
- **Vaissaire JP, (1977).** Appareil génital femelle. In : Sexualité et reproduction des mammifèresdomestiques et de laboratoire. Paris : Maloine S.A. Editeur, 206-245.
- **Vieu J.F., Vieu M. (1978).** Le test à l'O.N.P.G. et l'épidémiologie de *Pseudomonasaeruginosa*. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 8 (5) : 231-234.
- **Weaver LD (1986)-** Effects of nutrition on reproduction in dairycows- *Vet Clin Of North Amer : Food AnimPract*, 3 : 513-521
- **Westermann, S., Drillich, M., Kaufmanna, TB., Madozb, L.V., Heuwiesera, W. (2010).** A clinicalapproach to determine false positive findings of clinicalendometritis by vaginoscopy by the use of uterinebacteriology and cytology in dailycows. *Theriogenology* 74, 1248-1255.
- **Williams EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GC, Rycroft A, Dobson H, Sheldon IM. (2007)** The relation shipbetweenuterinepathogengrowthdensityandovarianfunction in the postpartum dairycow. *Therogenologie*, 68, 549-559.
- **Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. (2005)**Clinicalevaluation of postpartum vaginal mucus reflectsuterinebacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117.
- **Williamson NB (1987).** The interpretation of herdrecords and clinicalfindings for identifying and solvingproblems of infertility.*Compend.Contin.Educat.Pract. Vet.*,1:F14-F24.
- **Xian G., Lixia Z., Ganzhen D., Chang L., Chengye L., Changwei Q.(2011),**Aerobes and Levels of Estradiol and Progesterone in CysticEndometrial Hyperplasia-PyometraComplexBitches. *Journal of Animal and VeterinaryAdvances.* 10 (8) : 965- 971.

- **Ying T.C., Tsai L.L., Keh-Ming W., Jing-Jou Y., I.Wen H., Min-Chi L. (2009).** Genomic diversity of citrate fermentation in *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Microbiology*. **168** : 1-9.
- **Zarei M., Aminzadeh S., Zolgharnein H., Safahieh A., Ghoroghi A., Daliri M. (2010).** *Serratia marcescens* B4A chitinase product optimization using Taguchi approach. *Journal of biotechnology*. **8** (4) : 252-262.

Annexe I : *Matériel du laboratoire*

L'unité de bactériologie du laboratoire d'hygiène est équipée en :

- Bec bunsen
- Microscopes optiques, grossissement 40x, 60x, 80x et 100x
- Etuves de 28°C, 35°C , 37°C et 42°C
- Jarres d'incubation
- Hotte à flux laminaire
- Densitomètre
- Agitateur de type vortex
- Bain-Marie
- Réfrigérateur +4°C et congélateur -20°C
- Applicateurs d'antibiotiques
- Portoirs
- Tubes à essais à vis stériles
- Boîtes de Pétri stériles
- Anse de platine
- Pipettes Pasteur
- Micropipette de 200 µl et embouts
- Lames et lamelles
- Plaque en verre pour agglutination
- Pince métallique
- Ecouvillons
- Pied à coulisse
- Balance et récipient de balance
- Spatule

II.4.1.4. Autres

- ☐ Alcools 65° et 90°
- ☐ Disque à oxydase
- ☐ Disques d'antibiotiques
- ☐ Disque d'ONPG
- ☐ Eau distillée
- ☐ Eau physiologique
- ☐ Fuchsine diluée au 1/10
- ☐ Huile à immersion
- ☐ Huile de paraffine
- ☐ Huile de Vaseline
- ☐ Lugol
- ☐ Sang humain
- ☐ Violet de Gentiane

Annexe II : *les milieux de culture et leurs compositions*(Denis et al., 2007)

II.4.1.3. Milieux de culture

a- Les milieux d'isolement sélectifs

- ☐ Gélose Nutritive
- ☐ Milieu Hektoen
- ☐ Milieu Chapman
- ☐ Gélose au sang frais : Milieu Mueller-Hinton additionné de 10% de sang humain

b- Les milieux d'enrichissement sélectifs

- ☐ Bouillon Nutritif (BN)

c- Les milieux d'identification

- ☐ Gélose T.S.I
- ☐ Gélose mannitol-mobilité
- ☐ Citrate de Simmons
- ☐ Clark et Lubs
- ☐ Urée indole
- ☐ Milieu de MoellerFalkow

d- Milieu pour antibiogramme

- ☐ Milieu Mueller-Hinton simple

II.4.1.3. Réactifs

- ☐ TDA
- ☐ KOVACS
- ☐ VP I et VP II
- ☐ NIT 1 et NIT 2
- ☐ RM

❖ Milieux d'isolement sélectifs

☐ Géllose nutritive

Composition	Quantité (en gramme par litre)
Peptone	5 g
Extrait de viande	1 g
Exytrait de levure	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillee	100 ml

☐ Géllose Hektoen

Composition	Quantité (en gramme par litre)
Peptone pepsique de viande	12 g
Extrait autolytique de levure	3 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Salicine	2 g
Sels biliaires	9 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	5 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g

☐ Géllose Chapman

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Peptone	10,0 g
Extrait de viande de bœuf	1,0 g
Chlorure de sodium	75,0 g
Mannitol	10,0 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar-Agar	15,0 g
Eau distillée	qsp 1 Litre

❖ **Milieu d'enrichissement**

☐ Bouillon Nutritif

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Tryptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g

❖ **Milieus d'identification**

☐ Géllose TSI

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Tryptone	14 g
Extrait autolytique de levure	3 g
Extrait de viande	3 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g

Saccharose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Citrate ferrique ammoniacal	0,3 g
Rouge de phénol	24 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g

□ Milieu Citrate de Simmons

Composition	Quantité (en gramme par litre)
Chlorure de sodium	5 g
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	2 g
Phosphate d'ammonium	1 g
Phosphate dipotassique	2 g
Citrate trisodique	2 g
Solution de bleu bromothymol 1 %	8 ml
Agar	15g

□ Milieu Clark et Lubs

Composition	Quantité (en gramme par litre)
<i>Pour un litre d'eau distillée</i>	
Peptone tryptique de caséine	5 g
Phosphate dipotassique	5 g
Glucose	5 g

☐ Milieu de Moeller-Falkow

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Pour un litre d'eau distillée

Milieu de base = milieu témoin

Chlorure de sodium	5 g
Extrait de levure	3 g
Glucose	1 g
Bromocrésol pourpre solution à 1 %	1,5 ml

❖ Milieu utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme

☐ Milieu Muller-Hinton.

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Hydrolysât acide de caséine	17,5 g
Infusion de viande	2 g
Amidon soluble	1,5 g
Agar agar bactériologique	17 g

❖ Eau physiologique

Composition

Quantité (en gramme par litre)

Chlorure de sodium	8,5 g
Peptone	0,5 g
Eau distillée	100 ml

❖ Milieu riche non sélectif pour l'isolement des bactéries

□ Gélose au sang

Composition	Quantité (en grammes par litre)
Mélange spécial de peptones	23g
Amidon	1g
NaCl	5g
Agar	10g
Sang humain	50 mL

PREPARATION DE GELOSE AU SANG

1. Liquéfier la base au bain-marie bouillant.
 2. Attendre son refroidissement à 45°C (milieu en surfusion).
 3. Y ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette Pasteur (1 goutte = 0,05 mL), la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang de 5%, soit:
 - Pour 7 mL de milieu de base (petit culot): $(7 \times 0,05) / 0,05 = 7$ **gouttes**
 - Pour 18 mL de milieu de base (grand culot): $(18 \times 0,05) / 0,05 = 18$ **gouttes**
- NB : Le sang ne doit pas être sorti au dernier moment du réfrigérateur, sinon il y a prise en masse du milieu au moment de l'addition du sang.
4. Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation de bulles.
 5. Couler en boîte de Pétri en évitant la formation de bulles.

Autre possibilité: le sang frais peut être placé directement dans la boîte de Pétri. On coule ensuite le milieu en surfusion et on homogénéise dans la boîte de Pétri.

PRINCIPE, INTERET

- **Milieu riche** qui permet la culture et l'isolement des bactéries **exigeantes** (sans besoin de facteurs particuliers)
- **La lecture de l'hémolyse est un critère d'orientation, en particulier pour les streptocoques**

LECTURE :

Après 24 à 48 heures à 37°C, en aérobiose (éventuellement atmosphère enrichie en CO₂) ou anaérobiose ou micro-aérophilie.

Un milieu riche, comme la gélose au sang frais, permet la culture des bactéries exigeantes, mais aussi, bien-sûr, la culture des bactéries non exigeantes.

La présence de culture sur un tel milieu ne permet donc en aucun cas de dire que la souche est exigeante ! (il faudrait, pour cela, pouvoir constater en parallèle l'absence de culture sur un milieu de base).

- Examen macroscopique des colonies
- **Hémolyse :**
 - Absence d'halo d'éclaircissement autour de la colonie: **absence d'hémolyse**
 - Halo d'éclaircissement complet, à bords nets: **hémolyse β** (lyse des hématies et digestion **totale** de l'hémoglobine libérée)
 - Halo flou d'éclaircissement (sans verdissement): **hémolyse β' ou hémolyse " β floue"**
 - Halo verdâtre, à bords flous: **hémolyse α** (lyse des hématies et digestion **incomplète** de l'hémoglobine libérée à méthémoglobine)

Annexe III : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 E

Tests	Substrat	Caractère recherche	Réactifs	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase		Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase		Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase		Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase		Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate		Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase		Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA	Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	Kovacs	Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 + VP2	Incolore	Marron foncé
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase		Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	glucose	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation		Bleu/bleu vert	Jaune

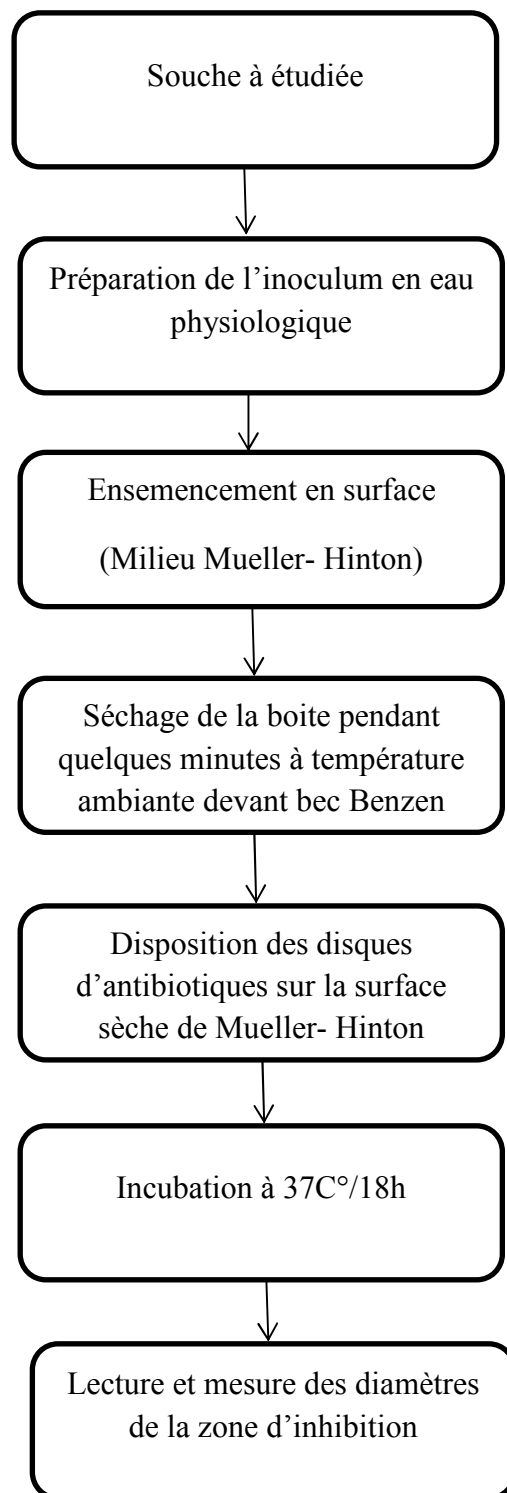
Annexe IV : Table de lecture de l'Antibiogramme
(D'après Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, 2011)

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour
« *Entérobactéries* »

Tableau: La liste des antibiotiques testés et leurs charges

Antibiotiques	La charge (µg)	Diamètres critiques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
AMIKACINE	30	≤14	15-16	17≥
AMPICILLINE	10	≤ 13	14-16	17≥
AMOXICILLINE	10/20	≤13	14-17	18≥
AZETRENAM	30	≤		≥
BACITRACINE	10	≤		≥
CHLORAMPHENICOL	30	≤12	13-17	18≥
LINDAMYCIN	2	≤		≥
CEFTRIAZONE	30	≤19	20-22	23≥
ERYTHROMYCINE	15	≤		≥
ACIDE FUSIDIQUE	10	≤		≥
GENTAMICINE	10	≤12	13-14	15≥
IMIPENEM	10	≤		≥
LINOCOMYCINE	2	≤		≥
METRONIDAZOLE	5	≤		≥
OXACILLINE	5	≤		≥
OFLOXACINE	5	≤		≥
PENICILLINE-G	10	≤		≥
PIPERACILLINE	100	≤		≥
PRISTINAMYCINE	15	≤		≥
STREPTOMYCINE	300	≤		≥
VANCOMYCINE	30	≤		≥

Organigramme: Les étapes de l'antibiogramme (**Roland, 2006**)



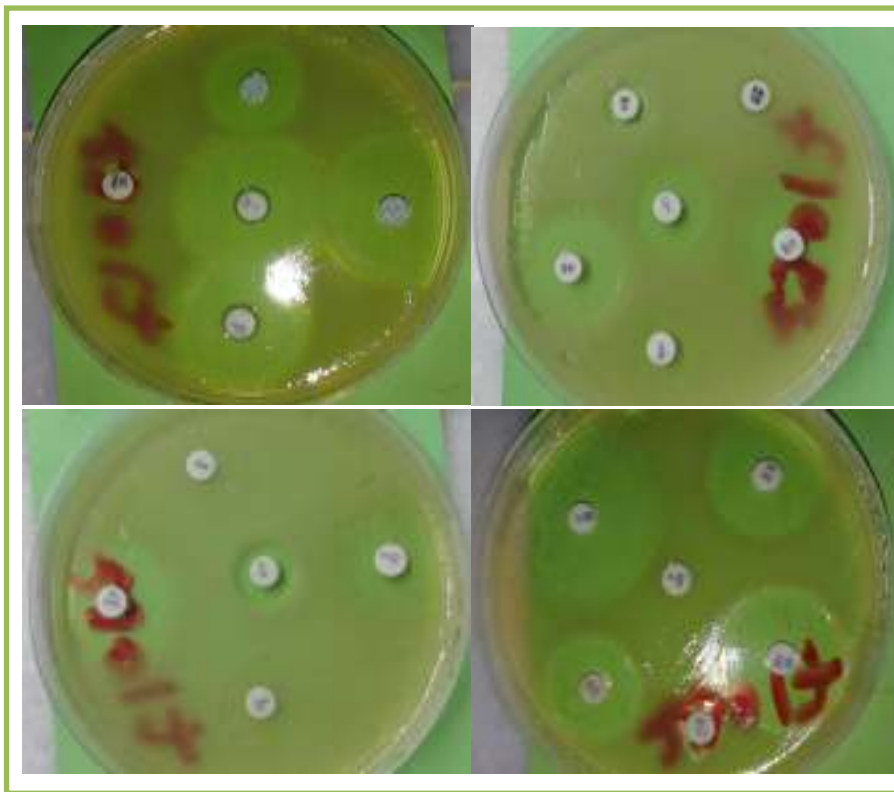


Photo personnelle: Antibiogramme d'une souche *Escherichia-Coli*

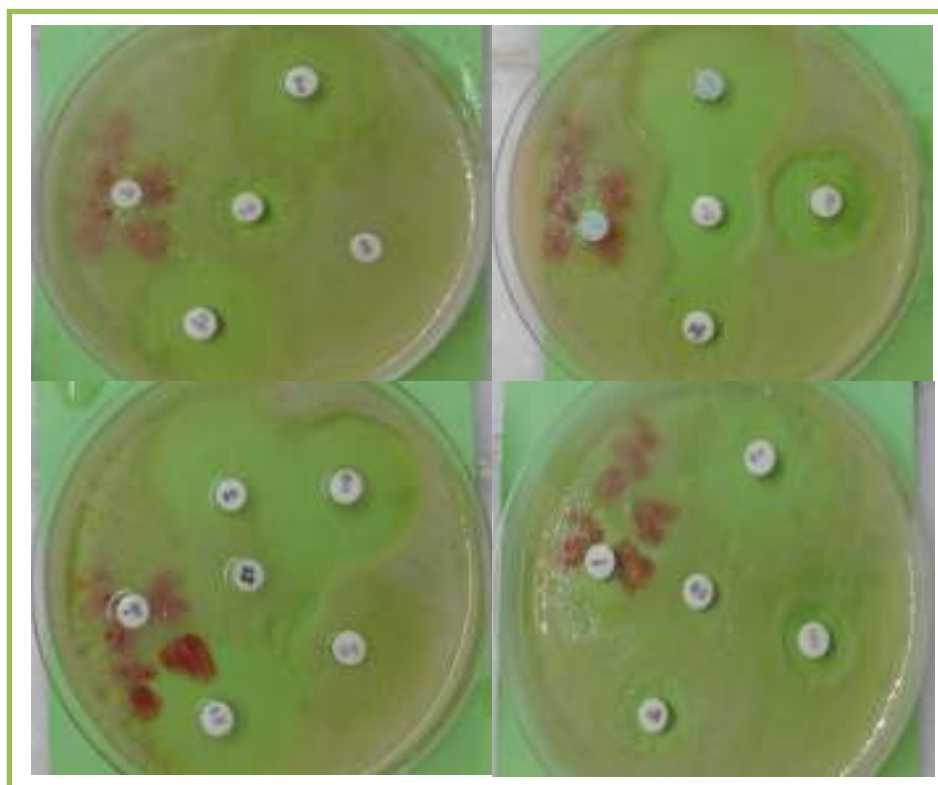


Photo personnelle: Antibiogramme d'une souche *Proteus mirabilis*

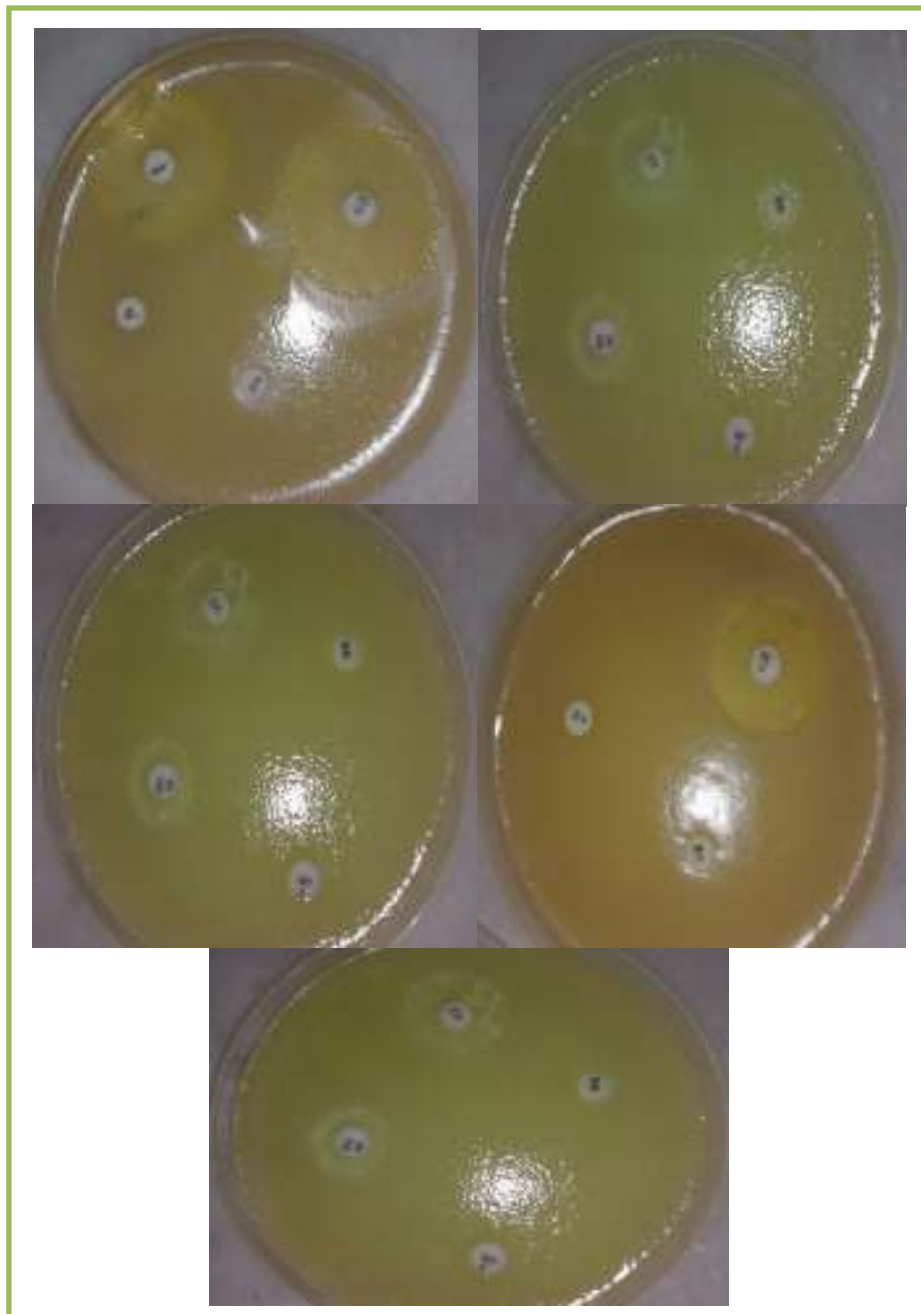


Photo personnelle: Antibiotogramme d'une souche *Bacillus*

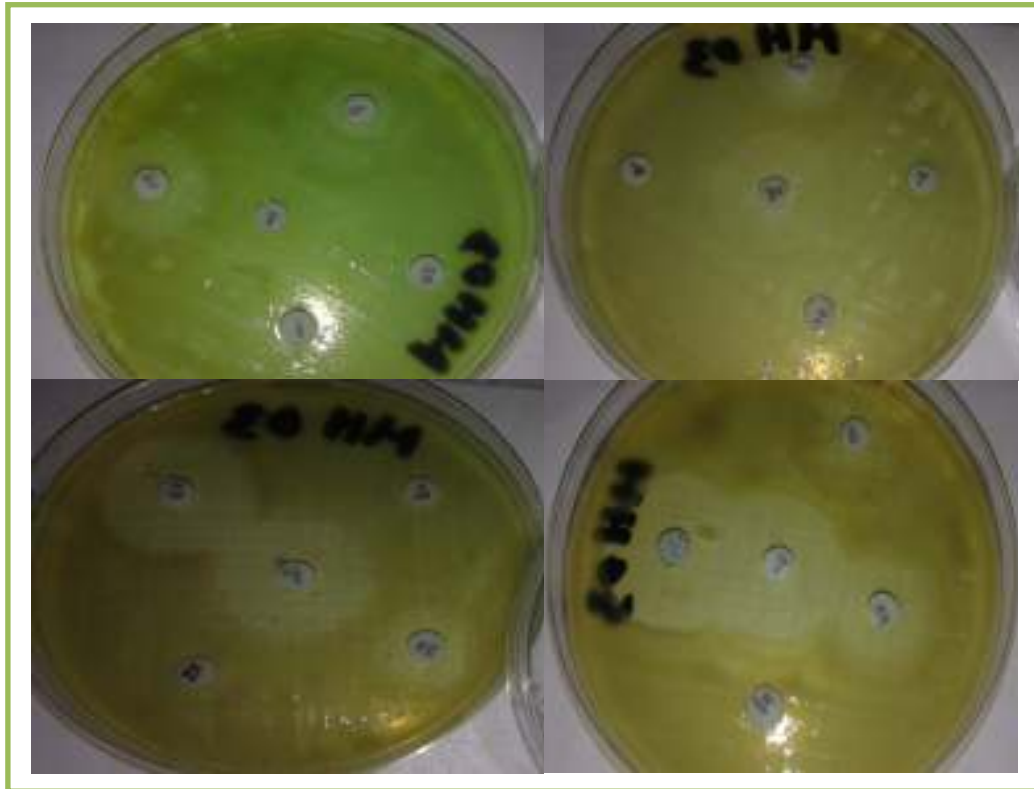


Photo personnelle: Antibiotogramme d'une souche *Pseudomonas*



Photo personnelle: Antibiotogramme d'une souche *Staphylocoque*

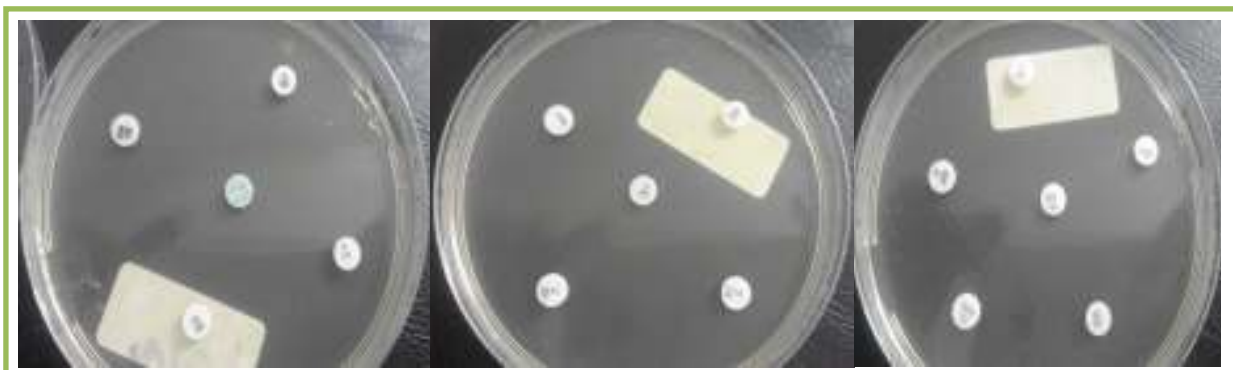


Photo personnelle: Antibiotogramme d'une souche *Staphylocoque*