



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**ETUDE DU COMPORTEMENT DES SPERMATOZOIDES *Performances*
zotechniques d'un élevage de
VIS-A-VIS DE CERTAINS ANTIBIOTIQUES UTILISES *reproducteurs chair*
dans la Wilaya de Bouira**

**POUR LE TRAITEMENT DES ENDOMETRITES
SUBCLINIQUES PAR LE SYSTEME CASA**

Présenté par :

ACHIT Imene

ZIANE BERROUDJA housna

Devant le jury :

Président :	KAIDI.R	PR	ISV Blida
Examineur :	YAHIMI.A	M.C.B	ISV Blida
Examineur :	ADEL.D	M.C.B	ISV Blida
Promoteur :	KALEM.A	M.C.B	ISV Blida
Invité d'honneur :	SALHI.O	M.A.A	ISV Blida

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promoteur **Dr kalem Ammar**, de nous avoir encadré avec sa cordialité franche et coutumière, on le remercie pour sa patience et sa gentillesse, pour ses conseils et ses orientations clairvoyantes qui nous ont guidé dans la réalisation de ce travail. Chaleureux remerciement.*

Nous remercions :

*Pr **Kaidi R** De nous avoir fait l'honneur de présider notre travail.*

*Dr **Yahimi A** D'avoir accepté d'évaluer et d'examiné notre projet.*

*Dr **Adel D** D'avoir accepté d'évaluer de d'examiner notre projet.*

*Nous saisisons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de l'institut des sciences vétérinaires de Blida en particulier **Dr Salhi**.*

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Ce travail est dédié à Allah, le Tout Puissant et Miséricordieux.

A mon très cher grand père qui ne fait plus partie de ce monde, tu étais mon compagnon le plus fidèle, tu veillais à ce que j'aie les meilleurs résultats à l'école, toujours là dans toute les étapes de ma vie, tu m'as soutenu jusqu'à la dernière minute avec ta tendresse et ton amour j'aurai aimé que tu sois là aujourd'hui mais je te porterai pour toujours et à jamais dans mon cœur, tu es une flamme qui ne s'éteindra jamais. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, tu es fier de moi. Puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sainte miséricorde. Repose en paix mon cher djedi.

Au meilleur des pères, mon cher papa Benyoucef ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu aies consenti pour mon éducation et ma formation le long de ces années, merci pour tout le soutien, l'amour que tu me portes depuis mon enfance. Que dieu te donne une longue vie pleine de santé.

A ma très chère maman Nouara, qui m'a donné naissance, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les obstacles de la vie ; j'espère que tu trouves ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma très chère tante Karima, ma deuxième mère, l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

A ma chère Nana, merci pour tout ce que tu fais pour moi pendant toutes ces longues années je te souhaite une longue vie.

A mes chères sœurs Manel merci pour ton amour et son époux Idir et mon petit Youyou, Sonia ma moitié et ma petite chérie et mon bras droit Magui ; vous êtes la source de mon bonheur, vous m'avez chaleureusement supporté et encouragé de près et de loin tout au long de mon parcours j'espère que la vie réserve le meilleur pour vous, je vous aime très fort.

A ma très chère cousine, sœur et meilleure amie Celia je te souhaite tout ce qu'il y a de plus beau avec bibichou

A mon très cher frère Giga le plus beau cadeau du ciel, que dieu te protège et te garde pour moi.

A mon très cher tonton Kaci, je te souhaite une longue vie merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

A ma meilleure amie et sœur Nadia, merci d'être là dans mon vie tu es le symbole de l'amitié avec ta gentille, ta générosité et ton amour sincère pour moi.

A toi my paradise, tu es la meilleure chose qui me soit arrivée durant ces 5 ans a Blida, tu es plus qu'une amie tu es ma sœur Ferdoussa.

A ma meilleure amie et binôme housna je te souhaite que du bonheur auprès de Amir.

A ma jumelle, ma confidente et ma très chère Asma merci pour le bonheur que tu apportes à ma vie.

A mon cher Yaya, l'épaule solide, merci d'avoir supporté mes humeurs, m'écouter attentivement et d'être là à chaque fois que j'en avais besoin je te souhaite beaucoup de succès, j'espère que tout tes rêves deviennent réalité.

A mes toute mes tantes Sissi, Farida Lila et Souad ainsi qu'à mes ancles Farid et sa femme ma chère tata Djamila, Hassen, le défunt Messaoud.

A tous mes cousins Nazim, Samy, Amine et jugo.

A toutes mes chères cousines Kamy, Melissa, Ilhem et la petite Amira.

A tous mes amis de l'ISVB, Oum el hana, Rahim, Romeissa, Ryma, Amir.

A toute la promotion 2018-2019.

Dédicace

Je dédie cette thèse,

A ma chère grande mère Djamila,

J'aurais tant aimé que tu sois présente. Que Dieu ait ton âme dans son vaste paradis et sa sainte miséricorde

A mes chers parents,

Avec tout mon amour je dédie cette thèse en premier à mon père. Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance pour ton dévouement et tes sacrifices, tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'épauler. Je te dédie cette thèse, que tu puisses y trouver le fruit de tes efforts.

A ma chère mère,

Tous les mots ne pourraient témoigner de ma gratitude, aussi je te dédie cette thèse comme fruit de ton dévouement et l'expression de mon profond amour.

A mon cher grand père, à Qui je souhaite une bonne santé

A mes chères sœurs, Sarah, Hadjer et Isra,

A mes chers frères, Oussama et Anes,

Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon fiancé Amir avec tout mon amour je te remercie pour ton soutien inconditionnel durant toutes ces longues années d'études.

A ma belle-mère Nadia et ma belle-sœur Sabrine, Je vous remercie tout particulièrement pour votre soutien et affection.

A mon beau père karim J'aurais souhaité ta présence en ce moment pour partager ma joie.
Que ton âme repose en paix.

A ma chère binôme, Imane Pour sa présence, son entente et sa sympathie.

A ma chère amie Rofaida, je te remercie pour ton amitié chère à mon cœur.

A ma chère cousine Bachira ,

Ta présence à mes côtés m'a toujours donné l'impression d'être proche de toute la famille.

A mes amis,

Ferdaousse, Asma, Sonia, Wafa, Hana, Ryma, Mouad, Othmane et Omer

Pour leurs aides et support dans les moments difficiles.

A tous mes amis, mes collègues et les étudiants de médecine vétérinaire.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aime.

Merci d'être toujours là pour moi.

Housna.

Résumé

Notre objectif est d'étudier le comportement des spermatozoïdes envers les antibiotiques in vitro. En effet notre intention est de proposer un traitement peu avant l'insémination afin de réduire les écarts de performances engendrés par les échecs d'insémination artificielle. Notre travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de biotechnologie lié à la reproduction animale, situé au niveau de l'institut vétérinaire de Blida 1, de la période allant du mois d'avril au mois de juin 2019.

Pour ce faire, nous avons choisi les antibiotiques les plus utilisés en routine vétérinaire pour le traitement des endométrites subcliniques. En fait certaines causes des échecs répétés de l'insémination sont imputables aux effets néfastes de l'antibiotique sur la cellule spermatique. Au total huit antibiotiques ont fait l'objet de l'étude. Chaque antibiotique testé a été co incubée avec de la semence bovine congelée provenant directement du centre d'insémination artificielle CNIAAG ainsi d'un vétérinaire inséminateur praticien. L'analyse a été réalisée par le système SCA (sperm class analyzer)

D'après les résultats obtenus, les antibiotiques ont un effet néfaste sur la cellule spermatique. La co incubation de cinq antibiotiques (amoxicilline, ciprofloxacine, tétracycline, gentamycine, rifampicine) avec la semence a engendré d'une part, une diminution de la motilité spermatique. La valeur moyenne calculée sur l'ensemble des ATB est de 18%, sachant que la motilité initiale du témoin était de 78% ; soit un écart de 50 %. D'autre part une altération (parfois augmentation et parfois diminution) de la vitesse linéaire qui aurait un impact négatif sur la fécondation

En conclusion nous constatons que la meilleure approche est de traiter la vache, la laisser se reposer pour la remettre en reproduction le cycle prochain.

Mots clés : antibiotiques, endométrites subcliniques, cellule spermatique, sperm class analyzer, semence.

ملخص

هدفنا هو دراسة سلوك الحيوانات المنوية ضد المضادات الحيوية في المختبر. في الواقع ، نعتزم اقتراح علاج قبل فترة وجيزة من التلقيح من أجل الحد من الاختلافات في الأداء الناجم عن فشل التلقيح الاصطناعي. تم تنفيذ عملنا التجريبي في مختبر التكنولوجيا الحيوية المتعلق بتكاثر الحيوانات ، الموجود في المعهد البيطري في البلدة 1 ، من الفترة

من أبريل إلى يونيو 2019.

للقيام بذلك ، اخترنا المضادات الحيوية الأكثر استخداما في الروتين البيطري لعلاج التهاب بطانة الرحم تحت الإكلينيكي. في الواقع ، بعض أسباب الفشل المتكرر في التلقيح تعزى إلى الآثار الضارة للمضادات الحيوية على خلية الحيوانات المنوية. تم دراسة ما مجموعه ثمانية المضادات الحيوية. تم تحضير كل مضاد حيوي تم اختياره مع السائل المنوي وطبيب بيطري ممارس. تم إجراء التحليل بواسطة نظام CNIAAG البقري المجمد مباشرة من مركز التلقيح الصناعي SCA (محلل فئة الحيوانات المنوية)

وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها ، والمضادات الحيوية لها تأثير ضار على خلية الحيوانات المنوية. أسفرت حضانة خمسة مضادات حيوية (الأموكسيسيلين ، والسبيروفلوكساسين ، والتتراسيكلين ، والجنتاميسين ، والريفامبيسين) مع هو 18 ٪ ، مع ATBs السائل المنوي عن انخفاض في حركة الحيوانات المنوية. متوسط القيمة المحسوبة على جميع العلم أن الحركية الأولية للسيطرة كانت 78 ٪ ؛ بفارق 50 ٪. من ناحية أخرى ، تغيير في السرعة الخطية (في بعض الأحيان يزيد وينقص في بعض الأحيان) مما سيكون له تأثير سلبي على الإخصاب. في الختام ، نجد أن أفضل طريقة هي معالجة البقرة ، والسماح لها بالراحة لوضعها في التكاثر في الدورة التالي

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية ، التهاب بطانة الرحم تحت الإكلينيكي ، خلية الحيوانات المنوية ، محلل فئة الحيوانات المنوية ، السائل المنوي.

summary

Our goal is to study the behavior of spermatozoa against antibiotics in vitro. Indeed our intention is to propose a treatment shortly before insemination in order to reduce the differences of performances caused by the failures of artificial insemination. Our experimental work was carried out at the Biotechnology Laboratory related to animal reproduction, located at the veterinary institute of Blida 1, from the period from April to June 2019.

To do this, we chose the antibiotics most used in veterinary routine for the treatment of subclinical endometritis. In fact, some causes of repeated failures of insemination are attributable to the adverse effects of the antibiotic on the sperm cell. A total of eight antibiotics were studied. Each antibiotic tested was Co incubated with frozen bovine semen directly from the CNIAAG artificial insemination center and an inseminator practitioner veterinarian. The analysis was performed by the SCA system (sperm class analyzer)

According to the results obtained, antibiotics have a detrimental effect on the sperm cell. Co- incubation of five antibiotics (amoxicillin, ciprofloxacin, tetracycline, gentamycin, rifampicin) with the semen resulted in a decrease in sperm motility. The average value calculated on all the ATBs is 18%, knowing that the initial motility of the control was 78%; a difference of 50%. On the other hand an alteration (sometimes increase and sometimes decrease) of the linear velocity which would have a negative impact on the fertilization

In conclusion we find that the best approach is to treat the cow, let her rest to put it back in reproduction the next cycle.

Key words: antibiotics, subclinical endometritis, sperm cell, sperm class analyzer, semen

Liste des tableaux :

TABLEAU 1: CONCENTRATION DES SPERMATOZOÏDES DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION AVEC L'ANTIBIOTIQUE SMX + LOT TEMOIN.....	38
TABLEAU 2: EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DES SPERMATOZOÏDES DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION AVEC LES ANTIBIOTIQUES (TE, COL) +LOT TEMOIN	38
TABLEAU 3: CONCENTRATION DES SPERMATOZOÏDES DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION AVEC LES ANTIBIOTIQUES (GN, E, AMC, RD, CIP) + LOT TEMOIN	38

LISTE DE FIGURE :

FIGURE 1 : L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE TAUREAU	03
FIGURE 2: DIFFERENTES ETAPES DE LA SPERMATOGENESE.....	08
FIGURE 3: ÉTAPE DE LA MEIOSE DE LA SPERMATOGENESE	08
FIGURE 4: ÉTAPES DE LA SPERMIOGENESE	09
FIGURE 5: SYSTEME CASA.....	23
FIGURE 6: SCHEMA EXPLICATIF DES PARAMETRES DE MOBILITE SPERMATIQUE ANALYSES PAR LE CASA.....	24
FIGURE 7: MICROPIPETTE	24
FIGURE 8: VORTEX (AGITATEUR)	24
FIGURE 9: BT (AZOTE)	25
FIGURE 10: BAIN MARIE	25
FIGURE 11: ÉTAPES DE PREPARATIONS POUR L'ANALYSE DE VITALITE SPERMATIQUE.....	26
FIGURE 12: ÉTAPES DE COMPTAGE DE VITALITE SPERMATIQUE	27
FIGURE 13: ÉVOLUTION DE LA MOTILITE DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION DES SPERMATOZOÏDES.....	29
AVEC LES ANTIBIOTIQUES (TE, COL, SMX, AMC, CIP, GN, RD) +LES LOTS TEMOINS.	
FIGURE 14: ÉVOLUTION DE LA VCL DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION DES SPERMATOZOÏDES.....	30
AVEC LES ANTIBIOTIQUES (TE, COL) + LOT TEMOIN.	
FIGURE 15: ÉVOLUTION DE LA VCL DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION DES SPERMATOZOÏDES	
AVEC LES ANTIBIOTIQUES (SMX)+ LOT TEMOIN.....	31
FIGURE 16 : ÉVOLUTION DE LA VCL DURANT LA PERIODE DE CO-INCUBATION DES SPERMATOZOÏDES	
AVEC LES ANTIBIOTIQUES (AMC,GN,CIP,RD,ERT)+LOT TEMOIN.	
FIGURE 17: ÉVOLUTION DE LA VSL DES SPERMATOZOÏDES CO-INCUBES AVEC LES ANTIBIOTIQUES	
(AMC, GN, CIP, RD, ERT) EN FONCTION DU TEMPS+ LOT TEMOIN.....	32
FIGURE 18: ÉVOLUTION DE LA VSL DES SPERMATOZOÏDES CO-INCUBES AVEC LES ANTIBIOTIQUES	
(TE,COL) EN FONCTION DU TEMPS +LOT TEMOIN.	33
FIGURE 19: ÉVOLUTION DE LA VSL DES SPERMATOZOÏDES CO-INCUBES AVEC ANTIBIOTIQUE (SMX) EN	
FONCTION DU TEMPS +LOT TEMOIN.	33

Liste des abréviations :

ADN : acide desoxyribonucleique

FSH : Follicle Stimulating Hormone

LH : luteinising hormone

ABP : L'androgen binding protein

GnRh : Gonadotropin-Releasing Hormone

CASA :

VLC : curvilinear velocity

VSL : straight-line velocity

VAP : average path velocity

ALH : amplitude of lateral head displacement

BCF : beat cross frequency

BHB : β -hydroxybutyrate

PGF2 : prostaglandine F2 α

ARN : acide ribonucléique

CMI : concentration minimale inhibitrice

ATB : antibiotique

TE : tétracycline

COL : colistine

SMX : sulfametoazole

AMC : amoxicilline

CIP : ciprofloxacine

RD : rifampicine

GN : gentamycine

ERT : érythromycine

SOMMAIRE :

Introduction :.....	01
Chapitre 1 : généralité sur l'appareil génital male.....	03
Les testicules :.....	04
Les Voies excrétrices :.....	04
Les voies spermatiques intra-testiculaires :	04
Les voies spermatiques extra-testiculaires :.....	05
L'épididyme.....	05
Le canal déférent :.....	05
L'urètre :	06
Les glandes annexes du tractus génital mâle :.....	06
La prostate :.....	06
Les vésicules séminales :	06
Les glandes de Cowper :.....	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre 2 : La spermatogenèse	07
Définition :	07
Phases de spermatogénèse :.....	07
Phase de multiplication des spermatogonies :	07
Phase de réduction et de maturation :	07
Phase de la spermiogenèse :	09
Cycle de l'épithélium séminal	09
La durée de cycle spermatique de l'épithélium séminale et de la spermatogenèse :.....	10
Régularisation de la spermatogenèse :.....	10
Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse :	10
Le rôle de la FSH dans la spermatogenèse :	10
Rôles de la LH :.....	11
Ultras structure du spermatozoïde et notions physiologiques :.....	11
Analyse des spermatozoïdes assistée par ordinateur (CASA = Computer Assisted Semen Analysis) :.....	12
Chapitre 03 : Les endométrites subcliniques.....	14
L'infection du tractus utérin	14
L'endométrite subclinique	15
Diagnostic et définition	15

Prévalence et facteurs de risque.....	16
Impact.....	17
Traitement	17
Antibiotiques.....	17
Hormonaux.....	17
Chapitre 04 : Généralités sur les antibiotiques.....	18
Définition.....	18
Utilisation des antibiotiques.....	18
Mode d’action des antibiotiques :.....	19
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :.....	19
Inhibition de la réplication de l’ADN :	19
Inhibition de la synthèse des protéines :	19
Classification des antibiotiques	20
Bêtalactamines	20
Aminosides	20
Tétracyclines (les cyclines)	20
Glycopeptides	21
Macrolides.....	21
Sulfamides	21
Les quinolones	21
Chapitre 05 : partie expérimentale	22
Matériel et méthode :	22
Matériel :	23
Méthodes :.....	25
Analyse microscopique :.....	27
discussion :.....	31
Conclusion :	40
Référence :.....	41

Introduction :

Après la parturition, la vache laitière passe par une période très sensible pendant laquelle plusieurs évènements vont se succéder, et dont certains la rendent très fragile. D'un milieu stérile durant la gestation, la cavité utérine est envahie rapidement après la mise-bas par des agents bactériens (Sheldon et al., 2002) commensaux (habitants normaux) du vagin et du vestibule. Physiologiquement durant la période PP, l'utérus passe d'un milieu contaminé avec une inflammation importante (Griffin et al., 1974 ; McDougall et al., 2011; Sheldon et al., 2002) après la parturition à un environnement utérin stérile et non inflammatoire à nouveau pour l'établissement d'une autre gestation à la fin de la période d'attente volontaire, 45 jours après la mise-bas (LeBlanc, 2008). Malheureusement, près de 50% des vaches laitières présentent un processus utérin infectieux et inflammatoire qui semble persister (LeBlanc, 2008) causant une infertilité consécutive à la perturbation de la fonction utérine et ovarienne (Williams et al., 2007). Ce qui est au départ un mécanisme physiologique de remise en condition de la cavité utérine avant qu'une gestation puisse être établie à nouveau se transforme en un processus pathologique qui affecte la fertilité future de la vache.

L'endométrite attire l'attention des scientifiques parce qu'elle est plus insidieuse et est présente juste avant la mise en reproduction. De plus, les outils de diagnostic sont loin de rencontrer les besoins du clinicien diagnosticien (faible sensibilité et spécificité pour prédire les performances en reproduction). Les outils de diagnostic utilisés sont : l'examen transrectal (Leutert et al., 2013), la vaginoscope (Barlund et al., 2008; LeBlanc et al., 2002a; Leutert et al., 2012; Runciman et al., 2009), le Metrichick (Dubuc et al., 2010a), le toucher vaginal (Runciman et al., 2009; Williams et al., 2005), la cytologie endométriale, la bactériologie et virologie utérine (Barlund et al., 2008; Couto et al., 2012; Deguillaume et al., 2012; Kasimanickam et al., 2005a) et la biopsie utérine . Malgré la faiblesse de ces outils, l'endométrite PP est associée à une altération des performances en reproduction. Même si les effets négatifs de l'endométrite sur les paramètres de reproduction sont consistants dans la littérature, l'efficacité du traitement demeure incertaine.

La littérature propose deux approches thérapeutiques pour le traitement de l'endométrite chez la vache laitière en période post-partum. La première approche consiste à

utiliser un antibiotique localement (intra-utérin) ou systémiquement, alors que la deuxième approche propose l'utilisation de prostaglandines (Lefebvre et al., 2012). Avec une origine infectieuse, l'antibiotique est le traitement le plus rationnel pour contrôler la charge bactérienne. Malgré le grand nombre d'études, l'impact positif d'un traitement de vaches atteintes d'endométrite en période post-partum avec un antibiotique reste à déterminer. Le manque d'un groupe contrôle, le petit nombre d'animaux, les différentes définitions de cas et l'utilisation de paramètres sans impact économique (gestation) caractérisent beaucoup d'études. Dans un cadre d'utilisation judicieuse des antibiotiques dans les élevages, il devient impératif d'établir l'efficacité d'une antibiothérapie lors d'endométrite post-partum chez la vache. Les antibiotiques attirent, particulièrement, l'attention des scientifiques quant à leur potentiel toxique sur la qualité spermatique. En effet, les études in-vitro n'ont exploré que sept antibiotiques : les nitrofuranes (Albert et al, 1975), la Gramicidine (Bourinbaïar et Chi-Hyun, 1996), la co-trimoxazole, l'érythromycine, la tétracycline, la chloroquine et l'amoxicilline (Hargreaves, 1998). Ces études ont révélé la présence d'une altération significative des paramètres de mobilité spermatique par la nitrofuranes, la chloroquine, la Gramicidine, le co-trimoxazole, l'érythromycine et la tétracycline. Cependant, l'amoxicilline s'est avérée n'avoir aucun effet néfaste. Par ailleurs, d'autres études se sont intéressées à la spermatotoxicité des antibiotiques in-vivo et ont concerné une gamme plus large d'antibiotiques à l'image de la Co-Trimoxazole, la Tétracycline, la Doxycycline, la Ciprofloxacine, la Gentamycine, Erythromycine, l'Enrofloxacine et l'Ofloxacine (Aral et al, 2007 ; Narayana, 2008 ; khaki et al 2008 ; yadav et al, 2012). Les résultats de ces études indiquent la présence d'une altération des paramètres de mobilité spermatique.

L'objectif du présent travail est, dans un premier temps, l'étude de l'impact in vitro des antibiotiques qui n'ont jamais été explorés, notamment ceux qui sont fréquemment prescrits pour le traitement des infections de l'appareil génital femelle. Dans un deuxième temps, cibler les antibiotiques qu'on pourrait utiliser pour traiter les endométrites. En effet, il existe deux stratégies thérapeutiques ; la première est de traiter la vache le même jour que l'insémination artificielle, ou encore traiter et laisser la vache se reposer pour l'inséminer le cycle d'après. Comme notre intention ainsi notre préoccupation est de réduire les écarts de performances engendrés par l'augmentation de la période d'attente et/ou de la période de reproduction, nous souhaiteront à travers cette étude, après avoir eu cibler les antibiotiques qui auraient un effet bénéfique pour les spermatozoïdes, traiter et inséminer le même jour.

Chapitre 1 : généralité sur l'appareil génital male

L'appareil reproducteur du taureau a pour rôle la production de sperme et son dépôt dans les voies génitales femelles où se réalise la fécondation représentée sur la figure (1).

Peut se décomposer en trois grandes parties (Taveau, 2012) : organe primaire, secondaire, et accessoire.

Les principaux organes sexuels males : sont les testicules, qui sont situés dans le scrotum suspendu à l'extérieur de la région inguinale

Les organes sexuels secondaires : sont composés de tissus de conduit, qui transportent les spermatozoïdes des testicules vers l'extérieur

Les organes accessoires : sont constitués les organes de la prostate, les vésicules séminales et la bulbo-urétrales (la glande de Cowper). (Chtelain, 1986)

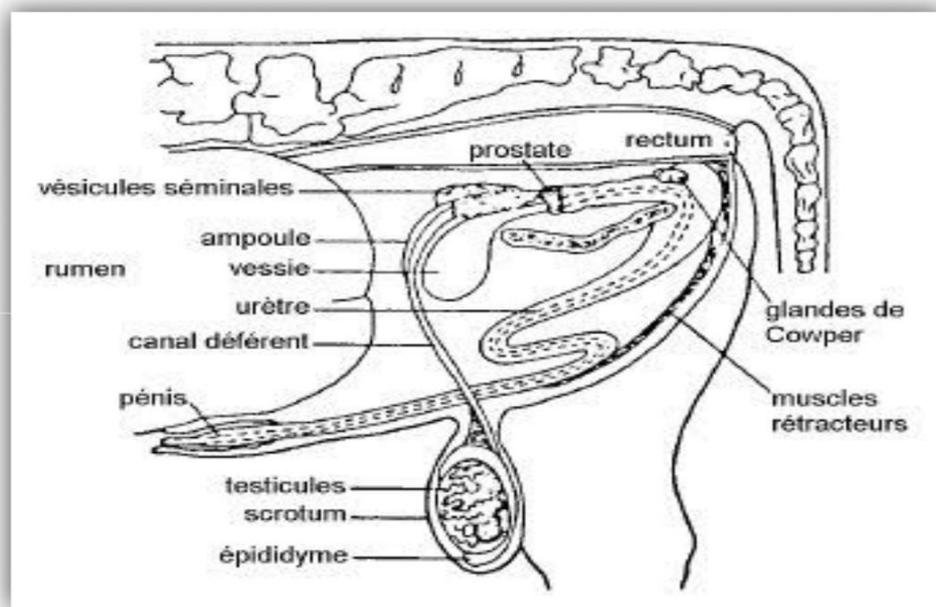


Figure 01 : L'appareil reproducteur de taureau (Chatelain, 1986).

1. Les testicules :

Les testicules sont des organes ovoïdes, bilobés, de couleur blanchâtre et, suspendus dans le scrotum en position vertical. Les testicules ont une origine méso néphrotique. Chez le taureau ils descendant dans les enveloppes testiculaires avant même la naissance. Le testicule est recouvert par une membrane fibreuse, résistante, non élastique, elles ont une longueur de 10 à 14cm, une largeur de 6 a 8cm (Peters, 2004). Les enveloppes testicules encor appelés les bourses sont formées de six membranes Elles soutiennent et protèges les testicules (Chenoweth et al., 2007).

Elles sont pourvues d'une fonction exocrine et endocrine, la fonction gamétogénèse (spermatogénèse assimilable à une fonction exocrine, est assurée par tubes séminifères de forme très flexueuse formant des anses qui s'ouvrent à leurs deux extrémités dans les tubes droits (Dadoun et Demoulin, 1991).

La fonction des testicules :

La secrétions de la testostérone et d'autres hormones stéroïdes par les cellules de Leydig

La production de spermatozoïdes ou spermatogénèse (Peters, 2004).

2. Les Voies excrétrices :

2.1. Les voies spermatiques intra-testiculaires :

Les voies de conduction spermatique testiculaires sont formées par les tubes droits prolongés par le rete testis d'où émergent une vingtaine de canaux efférents. Ces conduits quittent le testicule en traversant l'albuginée et convergent ensuite pour former la tête de L'épididyme (Baronne, 2001).

2.1.1. Les tubes droits :

Courts et rectilignes, ils prolongent les tubes séminifères et sont bordés par Un tissu épithélial simple formé de cellules cubiques qui sont équivalentes aux cellules de Sertoli des tubes séminifères. Au niveau des tubes droits, on ne trouve par contre plus de cellules de la lignée germinales à l'exception d'amas de spermatozoïdes en cours de migration.

2.2.2. Le rete testis :

Est bordé d'un épithélium simple et cubique

2.2.3. Le cônes efférents :

Ils cheminent dans le tissu conjonctif. Après la traversée de l'albuginée ils prennent le nom de cônes efférents qui, par fusion, forment le canal, épидидymaire unique Ils ont un rôle de conduction et de progression des spermatozoïdes le liquide du rete testis véhicule des spermatozoïdes immobiles. Il ne serait qu'une sécrétion tubulaire remaniée, probablement du fait d'échanges avec les veines testiculaires superficielles (Thibault, 2001).

3. Les voies spermatiques extra-testiculaires :

3.1. L'épididyme

La différenciation des gamètes mâles s'effectue dans le testicule. Cependant à leur sortie les spermatozoïdes ne sont pas matures : ils ne sont ni mobiles, ni fécondants. La Différenciation se poursuit en dehors de la gonade, dans le tube épидидymaire et constitue la maturation des spermatozoïdes. Dans cet organe, les spermatozoïdes continuent à se transformer en subissant plusieurs modifications notamment biochimiques, qui les rendront aptes à reconnaître et à féconder un ovocyte (Thibault, 2001). L'épididyme est un long canal de 80 mètres composé de trois parties : la tête, le corps, et la queue. Il relie les canaux efférents (à la sortie du testicule) au canal déférent ou niveau de la jonction épидидymo-différentielle. Le conduit déférent est palpable dans le cordon spermatique (Baronne, 2001).

3.2. Le canal déférent :

Le conduit déférent a un rôle de conduction des spermatozoïdes, qui migrent grâce à leur flagelle et aux contractions des fibres musculaires de la paroi. Ils sont ensuite stockés dans des ampoules du conduit déférent, juste avant l'urètre. Ce stockage ne doit pas être trop long car les spermatozoïdes perdent leur pouvoir fécondant en 72h. S'il n'y a pas d'éjaculation, ils dégénèrent et sont résorbés ou passent dans l'urine. S'il y a éjaculation, le canal déférent libère le sperme final, à savoir les spermatozoïdes, le fluide testiculaire et les sécrétions des glandes annexes (Thibault, 2001). Le conduit déférent est constitué de trois parties : une partie funiculaire (située dans le cordon spermatique), une partie abdomino-pelvienne (après l'interstice inguinal) et l'ampoule (au dessus de la vessie)

3.3. L'urètre :

L'urètre pelvien débute au-delà du col de la vessie et se termine au-dessus du col ischiatique. Il est composé d'une partie prostatique et d'une partie membranacée contenant un muscle sphincter. La prostate déverse son produit de sécrétion dans l'urètre pelvien via de nombreux petits conduits prostatiques. Les glandes de Cowper sont portées par l'urètre Pelvien et présentent de nombreux abouchements L'urètre pénien débute en regard de l'arcade ischiatique par un renflement et s'attache aux autres éléments érectiles. Il se situe au sein du corps spongieux (Baronne, 2001).

4. Les glandes annexes du tractus génital mâle :

4.1. La prostate :

C'est une glande unique bilobée peu développée, elle est située sous le sphincter urétral sous forme d'un petit renflement glandulaire transversal de couleur jaune grisâtre.

4.2. Les vésicules séminales :

Font suite au canal déférent, situées dorsalement et un peu latéralement à ce dernier, entre la vessie et le rectum (Barone, 1990). Elles déversent leurs sécrétions dans l'urètre par l'intermédiaire du conduit éjaculateur (Kolb, 1975 ; Barone, 1990 ; Bonnes et al., 2005).

4.3. Les glandes de Cowper :

Elles sont volumineuses, globuleuses, de taille d'une noisette et d'une largeur de 1cm (Barone, 1990 ; Setchell, 1991), étendues du revers médial de la tubérosité ischiatique à la face dorsale de la terminaison de l'urètre pelvien (Barone, 1990).

Chapitre 2 : La spermatogénèse

1. Définition :

La spermatogénèse est le processus de division et de différenciation cellulaire par lequel les spermatozoïdes sont produits à partir des spermatogonies situées dans les tubes séminifères des testicules. Le cycle de l'épithélium séminal correspond l'intervalle régulier de temps qui rythme l'entrée en spermatogénèse des cellules souche de renouvellement.

Chez le taureau, la spermatogénèse dure 54 jours et le cycle de l'épithélium séminal 13,5 jours, ces valeurs sont très similaires chez le chien. Chez l'homme, par contre ces processus sont plus longs : la spermatogénèse dure 74 jours et le cycle de l'épithélium séminal 16 jours (Thibault et Levasseur, 2001).

2. Phases de spermatogénèse :

2.1. Phase de multiplication des spermatogonies :

Juste avant la différenciation sexuelle de l'embryon, les cellules germinales primordiales migrent dans le testicule foetal, puis se différencient en gonocytes puis sont situés dans les tubes séminifères. Ils se multiplient et après la naissance se transforment en spermatogonies

La spermatogonie souche constitue, chez le mâle, le stock de renouvellement (estimé à plusieurs millions de cellules), à partir duquel les lignées spermatogéniques sont initiées tout au long de la future vie reproductive du mâle adulte, ainsi que la différenciation des cellules conduisant aux spermatocytes primaires. Les spermatogonies sont essentiellement des cellules diploïdes, et désignées par Ad (Dark, type A). Par mitose, elles donnent une spermatogonie Ad et une spermatogonie Ap (pâle, type A) appelée aussi « poussiéreuse ». La division de celle-ci aboutit aux spermatogonies B ou « croûteuses ». Les spermatogonies croûteuses se divisent une à trois fois pour donner des « spermatocytes du premier ordre » ou « spermatocytes I » (George, 1996).

2.2. Phase de réduction et de maturation :

Une fois transformée en spermatocyte primaire (produit final de la dernière division spermatogonale) le spermatocyte I devient une grande cellule ovalaire et réplique son ADN

avant de rentrer en méiose c'est au cours de cette étape que le phénomène de crossing over se produit, permettant l'échange de portions de chromosome homologue parental et maternel (figure) cela concourt au brassage des gènes caractéristique de la reproduction sexuée la première division de méiose réduit le nombre de chromosomes et donne des spermatocyte de deuxième ordre (spermatocyte II) . Ils subissent rapidement la deuxième division de méiose qui sépare les deux chromatides de chromosome pour donner des cellules haploïdes : les spermatides

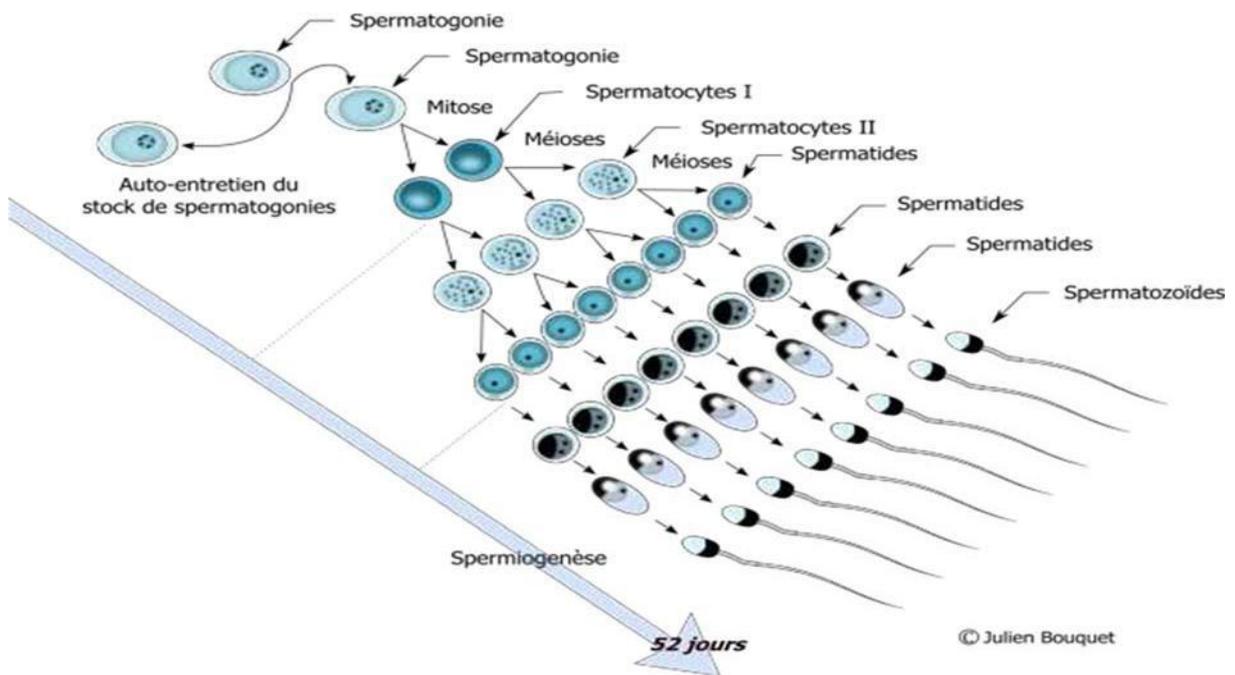


Figure 02 : Différentes étapes de la spermatogenèse.

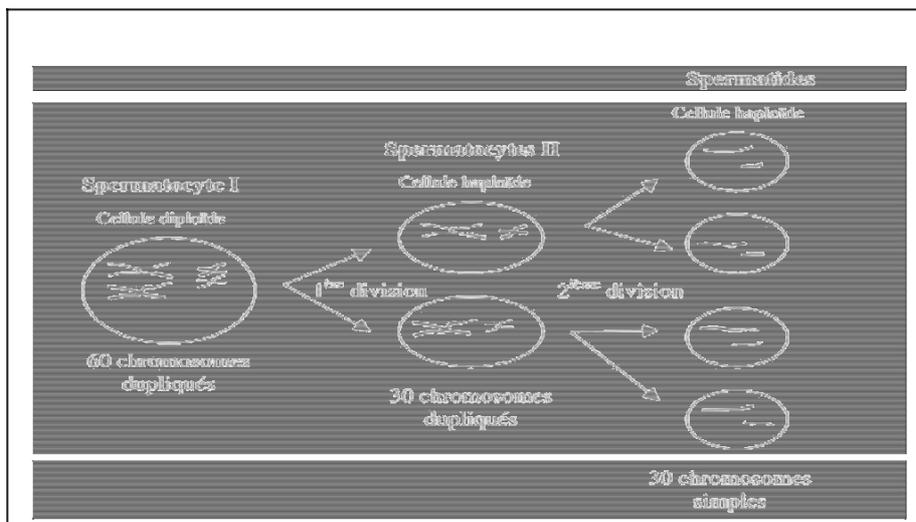


Figure 03 : Etape de la méiose de la spermatogenèse

2.3. Phase de la spermiogénèse :

La spermiogénèse est définie comme la somme des changements nucléaires et cytoplasmiques intervenant entre les spermatides et les spermatozoïdes. C'est une étape essentielle dont dépend, dans une large mesure, la qualité finale des gamètes (figure x2)

Réorganisation du noyau : Il s'aplatit latéralement, se dirige vers le pôle acrosomique et sa condensation se poursuit.

Développement du système acrosomique : Sur le pôle antérieur du noyau, s'étalent des vésicules provenant du système golgien pour former l'acrosome.

Assemblage des structures du flagelle : les formations flagellaires apparaissent à partir du col marqué par le centriole distal (Dadoune, 1998 ; Albert et Jean 2001).

La spermiation : est l'étape finale de la spermatogénèse : c'est la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère (Vaissaire, 1977)

3. Cycle de l'épithélium séminal

« La succession dans le temps de ces associations cellulaires en une même partie du tube constitue le cycle de l'épithélium séminifère » (Thibault, 1993).

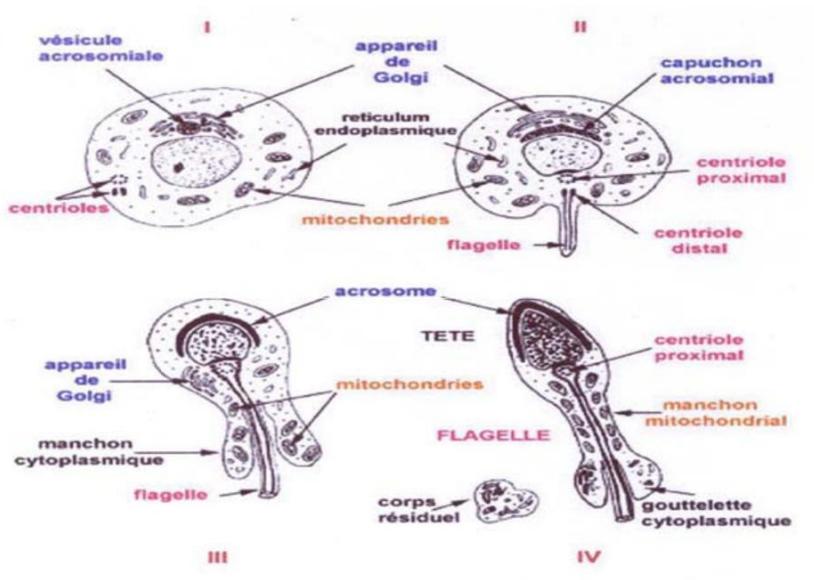


Figure 04 : Etapes de la spermiogénèse (Albert et Jean, 2001).

3.1. La durée de cycle spermatique de l'épithélium séminale et de la spermatogenèse :

Le cycle de l'épithélium séminal est la série des modifications se produisant a un niveau donné de l'épithélium de l'extérieur vers l'intérieure des tubes séminifères (Parez et Duplan, 1987). La durée de cycle séminale et de la spermatogenèse différent selon les espèces, chez le taureau, elle est respectivement 13.5 et 54 jours.

3.2. Régularisation de la spermatogenèse :

Ils sont sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire, des cellules de sertoli et interstitielles de Leydig et de la température.

3.3. Contrôle neuroendocrinien de la spermatogenèse :

Le déclenchement et le maintien de la spermatogenèse et sous la dépendance des hormones gonadotropes FSH, LH. Ainsi qu'une hypophysectomie, l'administration de FSH/LH a pu rétablir la spermatogenèse.

3.4. Le rôle de la FSH dans la spermatogenèse :

La FSH stimule les cellules de Leydig pour la production de testostérone synthèse de L'ABP (transport des androgènes) par les cellules de steroli, ce qui permet de transport des androgènes des testicules vers l'épididyme. Le contrôle de FSH se fait selon deux étages ; un étage hypothalamique par la GnRH (action positive) et un mélange gonadique

L'inhibine par contre va entrainer une action négative au niveau hypophysaire et hypothalamique et son action se fait en modulant la sécrétion du FSH par une interaction avec la réponse hypophysaire aux hormones hypothalamiques

3.5. Rôles de la LH :

L'action de la LH est indirecte sur le processus de la spermatogenèse puisqu'elle stimule la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig. Responsable du comportement sexuel et des caractères sexuels secondaire.

4. Ultras structure du spermatozoïde et notions physiologiques :

C'est une cellule monoflagelée de 50-70 micromètre de long et comportant plusieurs segments (figure). Le spermatozoïde éjaculé de mammifères est une cellule haploïde, porteuse du patrimoine génétique male, qui doit être capable d'atteindre et de féconder l'ovocyte dans

les voies génitales femelles. la mobilité du spermatozoïde est le facteur le plus utilisé pour apprécier la qualité de la semence, bien qu'elle ne reflète pas totalement la capacité de fécondation des spermatozoïdes. Les processus de biosynthèse étant quasi nul au sein des spermatozoïdes éjaculés, c'est le déplacement des spermatozoïdes qui requiert la plus importante quantité d'énergie (Batellier, 1997). La conservation de la semence à l'état liquide doit permettre aux spermatozoïdes leur aptitude à la fécondation.

Tête : de forme variable selon les espèces, allongés chez le taureau et présente une forme de massue chez le bélier et le bouc. Presque entièrement recouvert par le noyau qui contient le matériel nucléaire haploïde, elle est coiffée et limitée par deux membranes interne et externe appliquées à la membrane plasmique. Au niveau de la zone équatorial la cape acrosomiale est mince et plus dense et occupe le col de l'acrosome. Dans son tiers postérieur le noyau est séparé de la membrane plasmique par une mince couche cytoplasmique et cette région appelée « la cape postérieur ».

Pièce intermédiaire : de forme cylindrique, elle mesure environ 10 à 12 microns de longueur et un diamètre inférieur à 1 micron (Parez et Duplan, 1987). Représenté par des filaments axiaux entourés de 9 grosses fibres (triplets) et des mitochondries disposées en hélice.

Le flagelle : cylindrique, il mesure environ 50 microns de longueur et 0.5 micron de diamètre (Parez et Duplan, 1987). Il se termine par : des filaments axiaux perdant leurs dispositions symétriques et entourés uniquement de la membrane plasmique. La motilité du spermatozoïde est étroitement liée au fructose en anaérobie et au contenu intracellulaire en AMP cyclique (Mc Donald, 1980).

Conclusion :

Le spermatozoïde est le produit final de la spermatogenèse chez le male, qui se produit dans les tubules séminifères des testicules. Le poids sec d'un spermatozoïde bovin est environ 16.5×10^{-12} g et son volume est environ 30 pm^3 . Les spermatozoïdes des mammifères sont composés de deux parties principales, la tête et le flagelle, qui sont reliées par la pièce intermédiaire. La tête est constituée de l'acrosome, du noyau, et de petites quantités de structure cytosquelettique, et de cytoplasme (Bangham, 1961).

5. Analyse des spermatozoïdes assistée par ordinateur (CASA = Computer Assisted Semen Analysis) :

Le CECOS dispose d'un analyseur de sperme (Hamilton-Thorn Research) qui permet l'analyse assistée par ordinateur de certains paramètres séminologiques. Cette analyse n'est pas appliquée systématiquement à tous les éjaculats mais à ceux destinés à l'insémination intra-utérine et sur prescription, si le médecin demande une analyse du mouvement des spermatozoïdes. Les appareils de ce type fonctionnent grâce à une caméra couplée à un microscope et utilisent un logiciel informatique permettant de transformer le signal électrique transmis par la caméra et l'analyse des trajectoires des spermatozoïdes. Ces nouvelles technologies ont permis une certaine standardisation de l'analyse de la semence, cependant certains paramètres doivent être interprétés avec circonspection.

L'analyseur peut évaluer la concentration en spermatozoïdes du sperme, cependant, cette fonction peut conduire à une surestimation du nombre de spermatozoïdes. En effet, le système CASA ne peut pas faire la différence entre les débris cellulaires qui ont une taille semblable à celle des spermatozoïdes et les têtes de spermatozoïdes (Sharon et Mortimer, 2000). De plus en cas de faible concentration du sperme, les valeurs fournies ne sont pas fiables (Verstegen *et al.*, 2002). La détermination de la concentration du sperme humain par ce moyen n'est pas recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé. En outre, le système CASA peut déterminer le pourcentage de spermatozoïdes mobiles mais ce pourcentage peut être sous-estimé car les débris sont comptabilisés en tant que spermatozoïdes immobiles.

Les systèmes d'analyse assistée par ordinateur permettent une évaluation objective de la morphologie de la tête (Davis et Katz, 1993) et révèlent de subtiles différences qui ne peuvent pas être mises en évidence à l'examen classique. Toutefois, au laboratoire de spermiologie du CECOS, le spermocytogramme tient aussi compte des anomalies du flagelle et de la pièce intermédiaire. L'analyse morphologique fournie par l'Hamilton ne correspond donc pas aux critères de la classification de David. Ces différentes limites expliquent le fait que l'analyseur automatique ne soit pas utilisé en routine pour l'examen morphologique et que les méthodes classiques restent encore les plus employées dans les laboratoires d'andrologie.

Cependant, l'analyseur fournit des données intéressantes sur le mouvement des spermatozoïdes. Ainsi, des valeurs cinématiques sont déterminées pour chaque spermatozoïde, comme par exemple la VLC (Curvilinear Velocity) qui reflète la distance totale que couvre la tête du spermatozoïde au cours de la période d'observation. La VSL (Straight-Line Velocity) est déterminée par la mesure de la distance entre le point d'arrivée et le point de départ, en ligne droite. Enfin la VAP (Average Path Velocity) correspond à la distance parcourue sur le trajet moyen pendant la durée d'observation.

L'ALH (Amplitude of Lateral Head displacement) correspond à l'amplitude de déplacement latéral de la tête. La BCF (beat cross frequency) est la fréquence à laquelle la tête du spermatozoïde traverse la trajectoire moyenne, elle est mesurée en Hertz.

Chapitre 03 : Les endométrites subcliniques

1. L'infection du tractus utérin

L'intégrité utérine est souvent altérée chez les vaches en raison de la contamination bactérienne qui est quasi systématique peu après le vêlage. En effet, des bactéries peuvent être isolées chez plus de 90% de vaches dans les deux premières semaines postpartum (Aubadie-ladrix, M., 2005). 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 (Arthur, G.H et al. 1993, Tainturier., 1983). 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, S.J et al., 2002).

Dans la pratique, on distingue deux formes d'infections utérines à savoir les métrites puerpérales et les métrites chroniques ou endométrites (Slama, H, 1991) les premières survenant au cours des 21 jours postpartum associées à des symptômes généraux et les secondes survenant au delà de 21 jours postpartum et sans symptômes généraux associés. En fait il existe une hétérogénéité entre les auteurs quant à la définition des métrites. Ceci résulte du manque d'harmonisation des méthodes et des critères de diagnostic mais aussi du fait que la présence de sécrétions utérines claires au cours de la période d'involution utérine ne traduit pas nécessairement la présence d'un processus pathologique. 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 (Okano, A, 1987) Les infections utérines peuvent se définir selon plusieurs critères tels la localisation histo-anatomique, le délai d'apparition, les signes histologiques, les symptômes engendrés et leur gravité ou encore le germe responsable.

Grace au consensus établi entre les auteurs, on distingue l'endométrite puerpérale (ou aiguë), l'endométrite clinique, le pyomètre et l'endométrite subclinique (Tainturier, 1995). Ainsi l'endométrite puerpérale est une infection de l'utérus au cours des vingt-et-un premiers jours du postpartum. Elle se caractérise par une atteinte de l'état général et une sécrétion vaginale d'odeur fétide. L'endométrite clinique apparaît après vingt-et-un jours postpartum et

ne se traduit pas par des symptômes généraux mais le plus souvent par des écoulements mucopurulents voire purulents. L'endométrite subclinique est une inflammation de l'endomètre sans présence de sécrétions vaginales purulentes 21. (Kasimanickam, R., et al 2004) (Leblanc, S.J., et al 2002) (Tainturier, 1995).

2. L'endométrite subclinique

2.1. Diagnostic et définition

L'endométrite subclinique est définie comme la présence d'inflammation endométriale qui est associée à un effet négatif sur la reproduction subséquente des vaches laitières, sans la présence de signes cliniques. Plusieurs outils diagnostiques ont été utilisés afin d'identifier les animaux atteints de cette condition. La biopsie endométriale est présentée comme le test de référence. Pourtant, au cours des dernières années, la biopsie a été peu utilisée suite à deux études ayant suggéré que cette technique invasive pouvait être associée à une altération de la fertilité des vaches examinées (Miller et coll., 1980, Bonnett et coll., 1991).

En résumé, plusieurs définitions d'endométrite subclinique sont présentes dans la littérature et différents outils dont la biopsie, l'échographie, la cytologie et l'estérase leucocytaire sont disponibles pour évaluer la présence d'inflammation endométriale.

2.2. Prévalence et facteurs de risque

2.2.1. Individus

La prévalence d'endométrite subclinique chez les vaches laitières varie entre 11 et 53% selon les études (Kasimanickam et coll., 2004, Gilbert et coll., 2005, Barlund et coll., 2008, Galvao et coll., 2009b, Dubuc et coll., 2010b, Ghasemi, 2011). Cette variation peut s'expliquer en grande partie par des facteurs inhérents aux études comme la définition d'endométrite, l'outil diagnostique, ainsi que les facteurs d'inclusion et d'exclusion utilisés.

Pour l'endométrite subclinique, différents facteurs de risque spécifiques à la vache ont été identifiés. Comme pour la prévalence, la définition utilisée et la population étudiée sont des facteurs pouvant faire varier les facteurs de risque identifiés. Une augmentation du risque d'endométrite subclinique a été identifiée suite aux problèmes péri-partum tels les jumeaux, l'assistance au vêlage, la rétention placentaire (Kasimanickam et coll., 2004) et la métrite aiguë

(Cheong et coll., 2011). Ces associations ne sont pourtant pas toujours présentes (Dubuc et coll., 2010b) et ces différences peuvent être expliquées par les variations entre les études. Les différents indicateurs de balance énergétique ont été identifiés plus constamment comme facteur de risque. En effet, l'hypercétonémie ($BHB \geq 1\ 100\ \mu\text{mol/L}$) post-partum, l'augmentation d'acide gras non estérifié en période pré-partum, une faible consommation volontaire de matière sèche péri-partum et une condition corporelle inférieure à 2.75 au vêlage ont été associés au risque d'endométrite subclinique (Hammon et coll., 2006, Dubuc et coll., 2010b, Cheong et coll., 2011). Une seule étude réalisée en Nouvelle-Zélande (animaux élevés au pâturage) n'a pas mis en évidence d'association avec le bilan énergétique (Burke et coll., 2010).

2.2.2. Troupeaux

Les variations de prévalence entre les troupeaux d'une même étude supportent l'existence de facteurs de risque au niveau troupeau pour l'endométrite. Une étude récente a identifié certains facteurs de risque associés à l'augmentation de la prévalence d'endométrite subclinique dont le logement et la litière utilisés tôt dans la période post-partum (Cheong et coll., 2011). Cette étude, bien qu'innovatrice, a basé ses résultats sur un faible nombre de troupeaux et a testé un nombre restreint de facteurs de risque, ce qui peut influencer les résultats obtenus. Il serait également intéressant de déterminer un seuil de prévalence au niveau du troupeau associé à un impact négatif sur les performances en reproduction.

3. Impact

Le principal impact de l'endométrite subclinique étant rapporté dans les diverses revues est une détérioration de la fertilité des vaches atteinte de cette condition (Fourichon et coll., 2000, LeBlanc, 2008, Sheldon et coll., 2009).

4. Traitement

4.1. Antibiotiques

L'antibiothérapie a pour objectif de diminuer la charge bactérienne utérine et ainsi réduire l'inflammation associée (Bretzlaff, 1987). Le traitement à partir d'antibiotiques intra-utérins a la capacité d'atteindre des concentrations élevées au niveau de l'endomètre (Masera et coll., 1980).

4.2. Hormonaux

L'utilisation de PGF₂ α a pour objectif de vidanger le contenu utérin en provoquant l'œstrus grâce à la lyse du corps jaune et d'augmenter les défenses utérines grâce à la suppression de la progestérone et l'augmentation d'estrogène (Larson et Ball, 1992, Lewis, 2004).

Chapitre 04 : Généralités sur les antibiotiques

1. Définition

Les antibiotiques, du grec *anti* « contre », et *bios* « la vie », sont des molécules capables d'inhiber la croissance des bactéries (antibiotique dit bactériostatique) ou de les tuer (antibiotique dit bactéricide). Les antibiotiques peuvent être des substances naturelles, produites par des micro-organismes comme les champignons ou les bactéries ou des produits élaborés synthétiquement par semi-synthèse ou synthèse totale (Duval et Soussy, 1990).

2. Utilisation des antibiotiques

Les traitements antibiotiques ont pour objectifs la maîtrise des maladies, la restauration ou le maintien du bien-être humain et animal, et la prévention de la transmission des agents pathogènes aux autres animaux voir à l'Homme. Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent aux mêmes familles, à l'exception de quelques sous familles spécifiques à la médecine humaine.

On peut utiliser les antibiotiques à titre prophylactique ou thérapeutique (Page et Beloui, 1999). L'antibiothérapie curative est justifiée en cas d'infection bactérienne prouvée chimiquement ou bactériologiquement. L'antibiothérapie préventive est instaurée en prévention d'une infection bactérienne précise dans des circonstances définies (Portier et *al.*, 1999).

Pour pouvoir dire qu'un antibiotique est actif, il doit être en mesure d'atteindre sa cible bactérienne, de ne pas être inactivé (suite à l'interaction avec l'organisme) et être capable de se lier à sa cible. Néanmoins, pour qu'un antibiotique soit utilisé en clinique, il est exigé qu'il n'interagisse pas avec les cellules eucaryotes et conduisant à un effet toxique sur l'organisme du patient (Duval et *al.*, 1990).

3. Mode d'action des antibiotiques :

L'activité antibactérienne peut se manifester sous deux formes : l'activité bactériostatique (Inhibition de la croissance bactérienne) ou l'activité bactéricide (entraîne la mort de la bactérie).

Selon Gaudy et Buxeraud (2005) les antibiotiques agissent sur les bactéries par quatre mécanismes.

3.1. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :

Les antibiotiques perturbent la biosynthèse du peptidoglycane, glycoprotéine complexe de la paroi, induisant la perte de la viabilité cellulaire, voire la lyse de la cellule bactérienne.

3.2. Inhibition de la réplication de l'ADN :

De nombreuses erreurs dans la synthèse de l'ADN bactérien s'obtiennent par l'inhibition de l'ARN polymérase par les rifamycines, l'inhibition de l'ADNgyrase avec les fluoroquinolones, ou par l'inhibition de la synthèse des purines par les sulfamides et le cotrimoxazole. Les nitroimidazolés et nitrofuranes agissent également sur le génome bactérien selon des mécanismes moins bien connus.

3.3. Inhibition de la synthèse des protéines :

Le ribosome bactérien est la cible supramoléculaire de nombreux antibiotiques, provoquant l'arrêt plus ou moins brutal de la synthèse protéique.

3.4. Destruction de la membrane cytoplasmique

En dénaturant les phospholipides de la membrane interne, les agents polycationiques (polymyxines, colistine) ou polyéniques (nystatine, amphotéricine B) provoquent la fuite fatale de composés intracellulaires par rupture de la perméabilité cellulaire

4. Classification des antibiotiques

L'abondance des molécules d'antibiotiques a rendu nécessaire leur classification en familles et en sous-familles. Les antibiotiques possèdent en commun un certain nombre de propriétés telles que l'activité antimicrobienne, la toxicité sélective et l'activité en milieu organique (la bonne absorption et la bonne diffusion dans l'organisme), mais diffèrent sur d'autres propriétés et caractéristiques telles que : la structure chimique, l'origine de la molécule, le mode d'action et le spectre d'activité.

En tenant compte de tous ces éléments de ressemblances et de différences, une classification a été mise en point par les scientifiques. Ainsi, l'ensemble des antibiotiques connus jusqu'à présent sont réparties en douze familles (Annexe 01). Les principales familles sont:

4.1. Bêtalactamines

Les bêtalactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par leur indication en thérapeutique qu'en prophylaxie des infections bactériennes (Caravallo et al., 2004). Cette famille se caractérise par un élément structural commun : le noyau β -lactame (azitidin-2-one). Ce dernier est essentiel pour l'activité biologique et gouverne toute la chimie des antibiotiques de cette famille (Gaudy et Buxeraud, 2005).

4.2. Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques élaborés par des micro-organismes de la famille des actinomycètes (*Streptomyces*) ou micromonospora (François et Serge, 1986). Ils se distinguent entre eux par la nature de la génine, la nature des oses et le mode d'enchaînement génine-ose.

4.3. Tétracyclines (les cyclines)

Les tétracyclines constituent un large groupe de médicament ayant en commun leur structure chimique naphthène-carboxamide, structure à 4 cycles hexagonaux et leur activité. Selon leur origine, les tétracyclines sont subdivisées en deux sous-groupes. Les tétracyclines de la première génération, qui sont des produits d'origine naturelle et les tétracyclines de la deuxième génération qui sont toutes des produits de synthèse.

4.4. Glycopeptides

Les glycopeptides sont des molécules volumineuses et de poids moléculaires élevées. Ce sont des heptapeptides dont la structure de base est très voisine. Cinq des sept acides aminés sont conservés chez tous les glycopeptides (Gandy et Buxeraud, 2005).

4.5. Macrolides

Les macrolides sont des antibiotiques formés d'un noyau lactonique comportant une chaîne de 12 à 19 atomes de carbone liés à des amino-sucres par des ponts osidiques (Cohen et Jacqvot, 2001). Le premier macrolide à avoir vu le jour est l'érythromycine isolée en 1952 d'une souche de *Streptomyces erythreus* (Carbon, 1995).

4.6. Sulfamides

Les sulfamides, aussi appelés sulfonamides, furent les premiers agents antibactériens efficaces à être utilisés chez les humains en 1932 (Beaulieu et Lambert, 2010), ils sont des analogues structuraux de l'acide p-aminobenzoïque.

4.7. Les quinolones

Les quinolones forment une classe d'antimicrobiens qui a pris une expansion considérable depuis le tout premier agent, l'acide nalidixique. De la couverture des infections urinaires aux infections respiratoires (antimicrobien de troisième génération) ou aux infections intra abdominales (trovafloxacin), plusieurs molécules ont été synthétisées avec chacune leurs particularités (Larouche, 2001).

Les infections utérines entre autres l'endométrite subclinique ont un impact économique majeur au travers de leur influence sur les performances de reproduction. La mise en place d'un traitement permet néanmoins d'améliorer ces performances. Le choix de l'antibiotique ainsi que la voie d'administration diffèrent d'un vétérinaire à un autre. Certains optent pour la voie utérine, d'autres par contre sont des adeptes de la voie systémique.

Afin de réduire les écarts de performances imputables aux échecs de l'insémination artificielle, certains auteurs préconisent, lors d'endométrites subclinique, un traitement à base d'antibiotique peu avant l'acte d'insémination. Cependant dans l'espèce bovine, les spermatozoïdes, de par leur structure riche en acides gras polyinsaturés, sont sensibles aux réactions d'oxydation provoquées par les poly nucléaire et les antibiotiques.

L'intérêt de ce traitement lors d'endométrites subclinique reste à prouver. À travers cette étude on tente de répondre à cette question, en testant *in vitro* huit antibiotiques Co-incubés avec de la semence bovine afin de voir leurs impacts sur la motilité et la vitalité spermatique.

1. Objectif :

L'objectif du présent travail est,

- ✚ L'étude de l'impact, *in vitro*, des antibiotiques qui sont fréquemment prescrits pour le traitement des infections de l'appareil génital femelle, sur la qualité spermatique dans un premier temps.
- ✚ Cibler les antibiotiques qu'on pourrait utiliser pour traiter les endométrites peu avant l'insémination artificielle dans un deuxième temps.
- ✚ L'objectif escompté, est de réduire les écarts de performances engendrés par l'augmentation de la période d'attente et/ou de la période de reproduction.

2. Matériel et méthode :

2.1. Matériel :

2.1.1. Matériel biologique :

Semence :

Paillettes de sperme congelé

Les antibiotiques :

Dans cette étude, un ensemble de 8 antibiotiques ont été testé. Ces derniers sont choisis selon la fréquence de leurs utilisations pour les infections utérines en particulier pour l'endométrite subclinique : tétracyclines, érythromycine, sulfaméthoxazole, gentamycine, colistine, ciprofloxacine, amoxicilline+acide clavulanique, rifampicine.

2.1.2. Matériel de laboratoire :

Système CASA :

Ce système comporte un microscope lié à une caméra digitale, le tout est associé à un ordinateur doté d'un logiciel d'analyse informatique des paramètres spermatiques (Sperme class Analyzer ; SCA Version 5.4, microptic S.L. Viladomat 321, 6 – 4 08029 – Barcelona, Spain) (Figure).

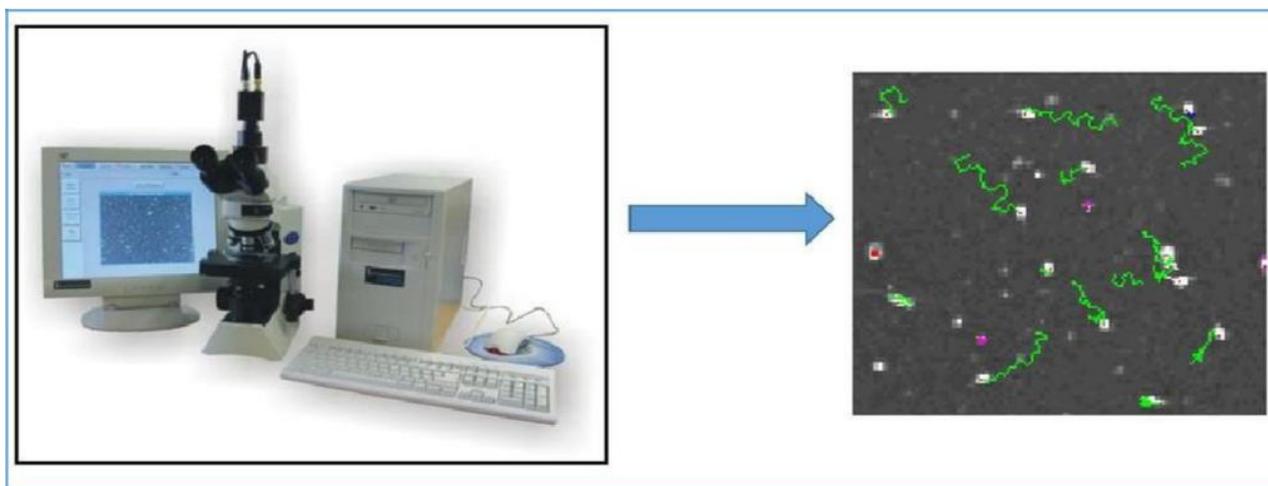


Figure 05 : Système CASA

Cet outil sert à réaliser une analyse automatique des vidéos de spermatozoïdes en mouvement et générer des valeurs objectives des paramètres de mobilité suivants : la vitesse curviligne ou (VCL) (Curvilinéaire Velocity), la vitesse moyenne de trajectoire ou VAP (Average Path Velocity), la vitesse linéaire ou VSL (Straight-Line Velocity), l'ALH (Amplitude of Lateral Head displacement), la fréquence de battement de tête ou BCF (beat cross frequency). Les données sont récupérées sous forme d'un fichier Excel.

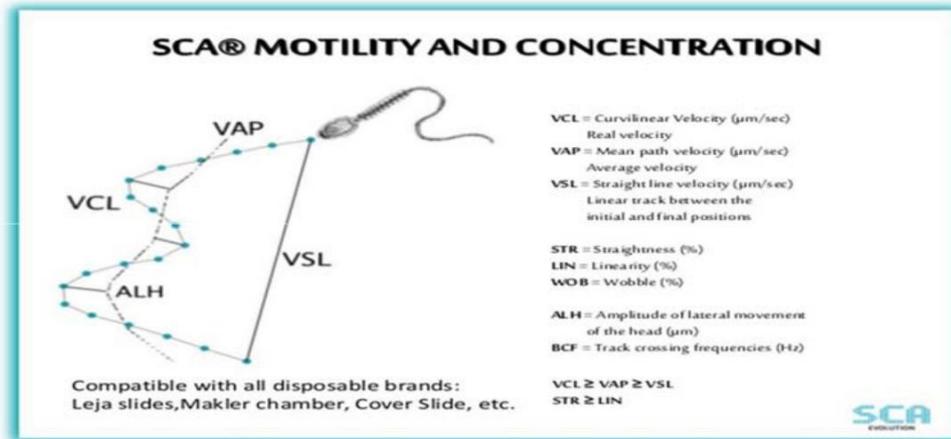


Figure 06 : schéma explicatif des paramètres de mobilité spermatique analysés par le CASA

a. Consommable :

Lames et lamelle, seringues de 5 ml et de 1 ml, papiers absorbant, gants en latex, embouts bleus et jaunes stériles (1 ml et 200 μL), tubes à essai stériles, Eppendorfs stériles.

b. Produit chimique :

Eau physiologique stérile (NaCl à 0.9%), eau déminéralisée, éosine et nigrosine.

c. Autres :

Des micropipettes de 10 μl , 100 μl , et 1000 μl , vortex (agitateur), ciseau, BT (azote) pour la conservation des paillettes de sperme, bain marie.



Figure 07: Micropipette



Figure 08: Vortex (agitateur)

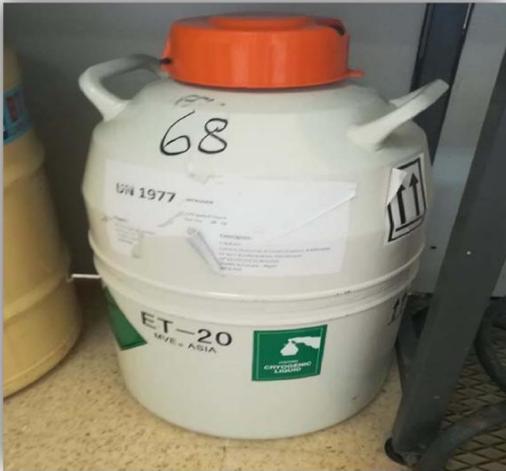


Figure 09: BT (azote)



Figure 10 : Bain marie

2.2. Méthodes :

Les manipulations effectuées durant l'expérimentation se sont déroulées dans des conditions d'asepsie afin d'éviter toute contamination microbienne risquant d'altérer les résultats obtenus.

2.2.1. Préparation des solutions :

2.2.1.1. Protocole de préparation de témoins :

Dans un Eppendorf 1ml de NACL a 0.9 % on ajoute 0.5 ml de semence congelée ou bien dans 0.5 de NACL on ajoute 0.25 ml de semence pour économiser des paillettes.

Etiqueter l'Eppendorf (T : témoins T0 NACL+ sperme)

Placer l'Eppendorf dans un bain marie à 37°C pour ne pas générer un choc thermique pour les spermatozoïdes.

NB : le témoin permet d'estimer l'impact des antibiotiques sur la capacité spermatique.

2.2.1.2. Protocole de préparation de solution d'antibiotique+ sperme :

Dans un Eppendorf on met 1ml d'eau physiologique, on ajoute 0.5ml de semence ; donc on utilise deux paillettes à raison de 0.25ml chacune et un disque d'antibiotique.

Nb : un disque d'antibiotique ----- pour un 1ml d'eau physiologique (pour garder la CMI)

Etiqueter l'Eppendorf (ATB+ sperme).

Placer l'Eppendorf dans un bain Marie à 37°.

2.2.1.3. Préparation d'un échantillon de témoins :

Pour la motilité spermatique : entre une lame et lamelle on prépare quelques gouttes de semence diluée (témoins) à l'aide d'une micropipette de 10 μ l, 100 μ l.

Etiqueter la lame T0

Analyser sur ordinateur CASA

Pour la vitalité spermatique

- ✓ On prépare dans une lame, une goutte de semence diluée + une goutte d'éosine et une goutte de nigrosine. (normalement 2 gouttes de nigrosine mais celle qu'on dispose au labo est concentrée)
- ✓ On laisse agir pendant 3 à 5 minutes
- ✓ On étale et on laisse sécher
- ✓ Enfin, on analyse sur ordinateur CASA

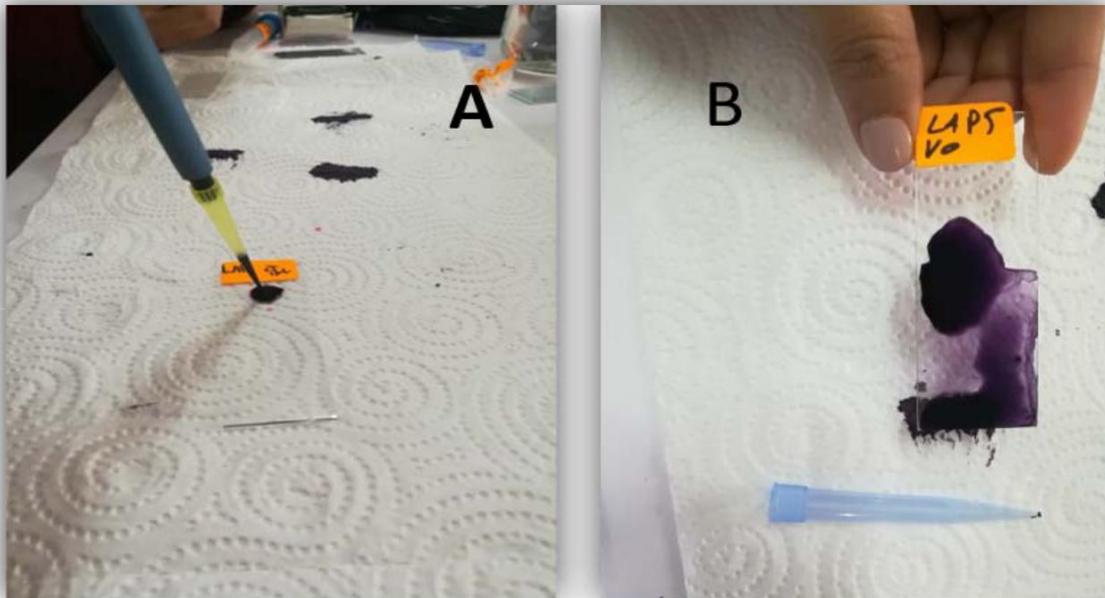


Figure 11 : Etapes de préparations pour l'analyse de vitalité spermatique.

2.3. Analyse microscopique :

L'analyse microscopique est obtenue directement d'un analyseur informatique du sperme CASA qui présente des valeurs objectives des paramètres de mobilité :

- ✓ La vitesse curviligne ou (VCL)

- ✓ La vitesse moyenne de trajectoire ou VAP
- ✓ La vitesse linéaire ou VSL
- ✓ La fréquence de battement de tête ou BCF

2.3.1. Motilité massale :

2.3.1.1. Analyses des témoins :

Dans un premier temps T0, on effectue l'analyse de témoins. Le mouvement d'ensemble des spermatozoïdes est estimé directement après l'analyse par observation d'une goutte de sperme sous microscope optique au grossissement x10, chambre Ph1 avec filtre vert, et une plaque chauffante à 37°C pour éviter les chocs thermiques des spermatozoïdes voire fausser les résultats. Les résultats sont enregistrés sur fichier Excel.

2.3.1.2. Analyses de la solution antibiotique + sperme :

Pour cette analyse, on utilise les mêmes étapes que la précédente. Toutefois, les résultats obtenus y sont tout à fait différents. L'analyse est ensuite reproduite à t1=30min t2=1h t3=2h pour chacune des solutions.

2.3.2. Vitalité spermatique : On a obtenu la vitalité de l'ensemble des spermatozoïdes après avoir calculé le nombre des spermatozoïdes morts (Dead) et vivants (actif) dans des différents champs sous microscope optique au grossissement x60, chambre A sans filtre.



Figure 12 : Etapes de comptage de vitalité spermatique

2.3.3. La concentration :

La concentration du sperme des différents échantillons est obtenue directement à partir d'un analyseur informatique du sperme (CASA), en tenant compte du taux de dilution.

3. RESULTATS :

3.1 La motilité :

Les résultats de la motilité sont illustrés par la figure 13

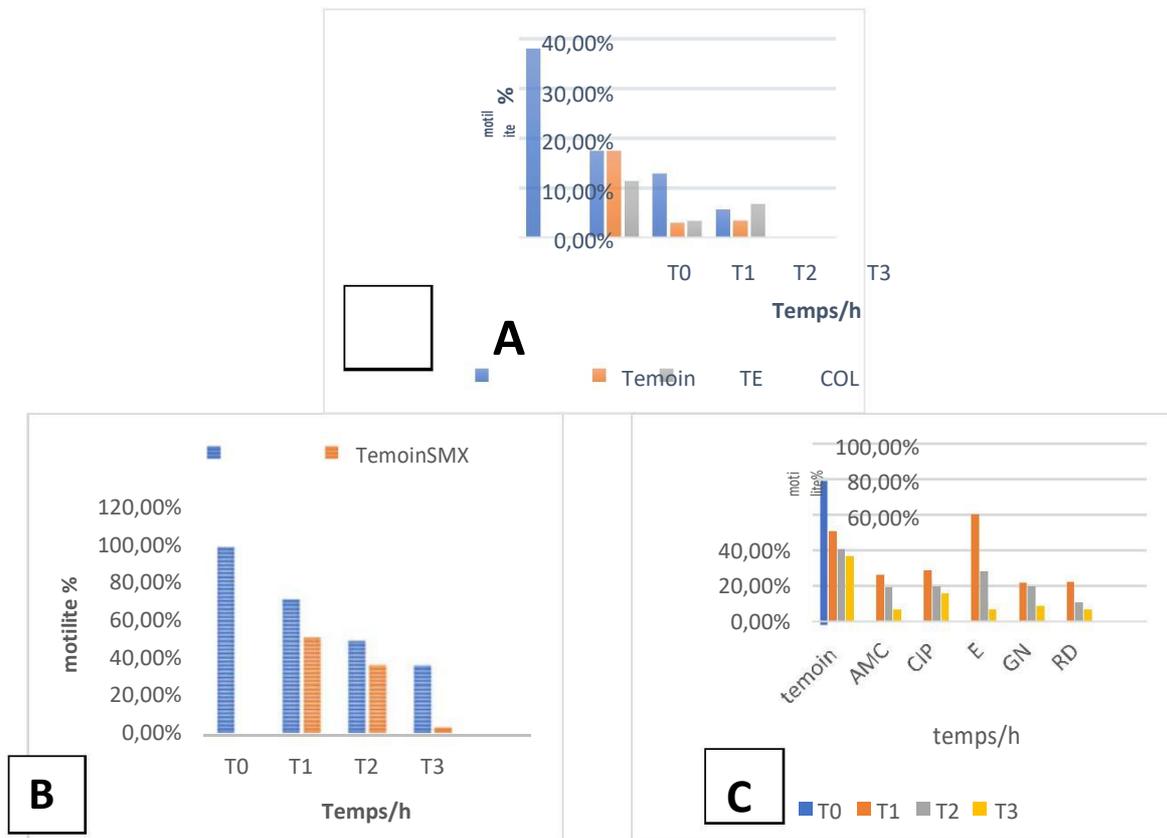


Figure 13 : Evolution de la motilité durant la période de Co-incubation des spermatozoïdes avec les antibiotiques (TE, COL, SMX, AMC, CIP, GN, RD) + les lots témoins.

Groupe A :

Une diminution progressive du pourcentage de motilité a T1 et T2 par rapport au lot témoin ; cela montre que les antibiotiques (COL et TE) provoque un effet néfaste sur les capacités spermatiques. À T3 nous avons noté une légère augmentation.

Groupe B :

Une baisse du pourcentage de motilité enregistré à T1 T2 et T3 comparativement à t0 (témoin). Cela est imputé, aussi à l'effet toxique de l'antibiotique (SMX) sur la cellule spermatique.

Groupe c :

Le pourcentage de motilité enregistré présente une diminution progressive lors de co-incubation des spermatozoïdes avec (AMC, CIP, GN, RD), Excepté pour les Erythromycine ou la valeur est plus élevée.

3.2 La vitesse courbe (VCL) :

Les résultats sont représentés par les figures 14, 15 et 16 :

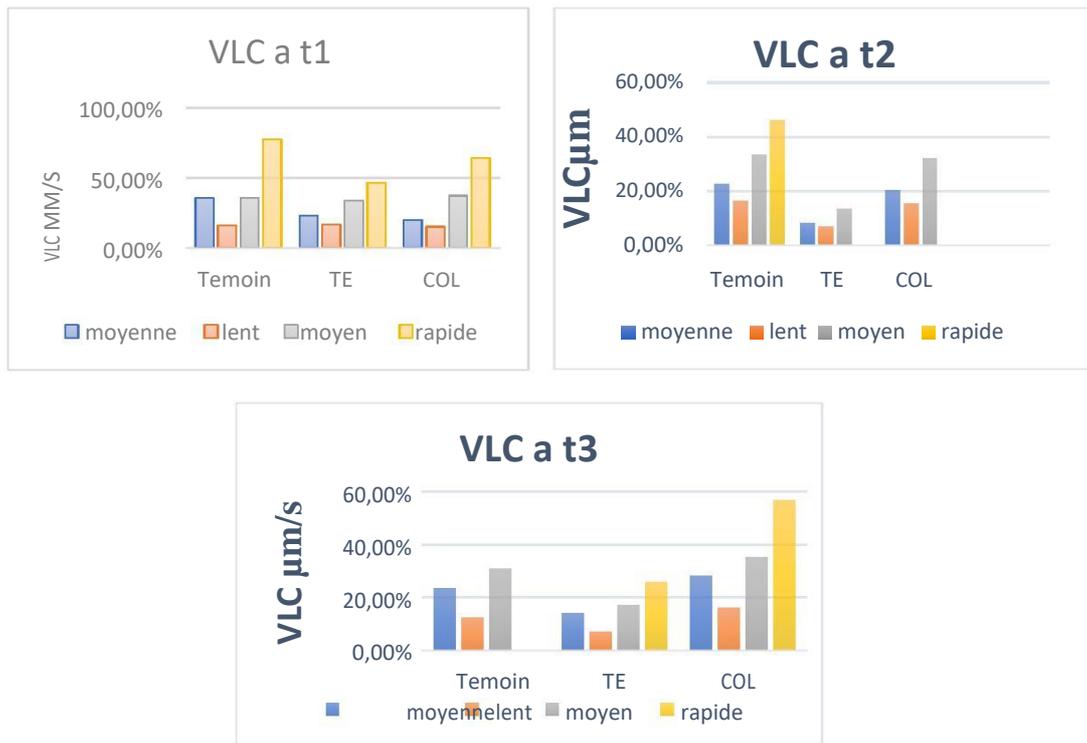


Figure 14 : Evolution de la VCL durant la période de co-incubation des spermatozoïdes avec les antibiotiques (TE, COL) + lot témoin.

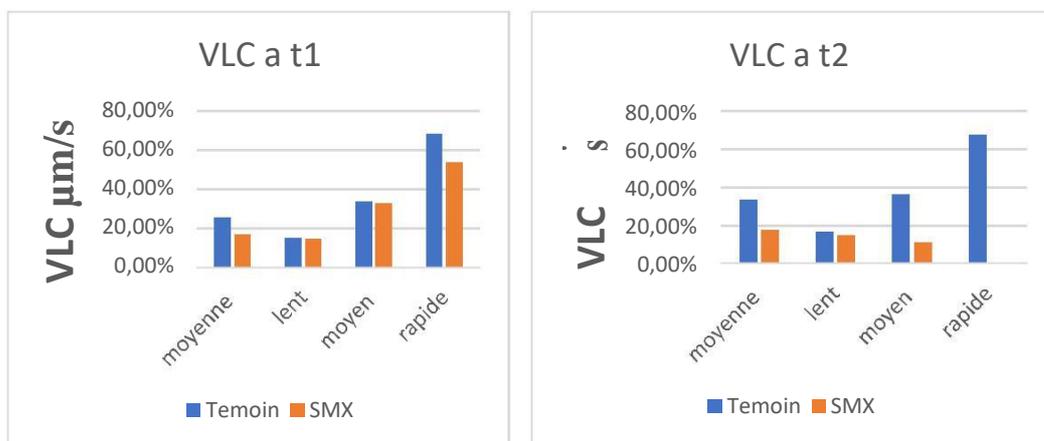


Figure 15 : Evolution de la VCL durant la période de co-incubation des spermatozoïdes avec les antibiotiques (SMX)+ lot témoin.

Nous avons constaté une diminution de la VCL a T1 et T2 durant la co-incubation des spermatozoïdes avec les COL et les TE, et une augmentation de celle-ci a t3 par rapport à la VCL de témoin (fig. 14).

Nous avons enregistré une diminution de la VLC a T1 et T2 avec les SMX comparée aux VLC du témoin (fig 15).

Pour ce qui est des résultats illustrés par la figure 16 :

A T1 : On a constaté une diminution de la VLC lors de la Co incubation avec CIP et ERT et une légère diminution avec les RD comparativement au témoin. Par contre une augmentation est constatée durant la période de Co- incubation avec les GN et les AMC.

A T2 : On a observé une diminution de la VLC avec les AMC, GN, CIP, ERT, CIP et une augmentation significative de la VLC avec les RD.

A t3 : Une diminution de la VLC spermatique est constaté aussi pendant la Co-incubation avec les AMC, GN, CIP, RD, et une augmentation marquée avec les ERT.

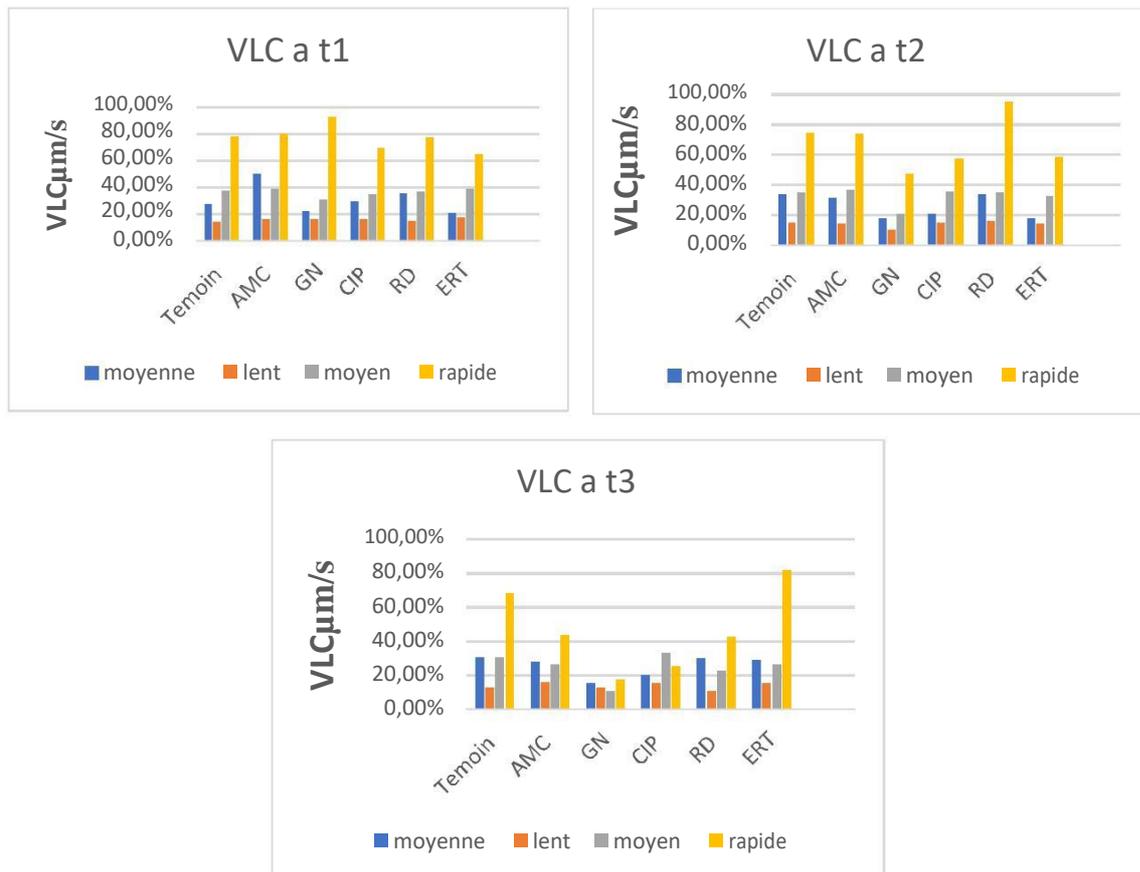


Figure16 : Evolution de la VCL durant la période de Co-incubation des spermatozoïdes avec les antibiotiques (AMC, GN, CIP, RD, ERT) + lot témoin.

3.3 la vitesse linéaire (VSL) :

Les valeurs de la VSL du sperme du lot témoin et de chaque antibiotique sont représentés dans 3 temps par les figures 17, 18, 19 :

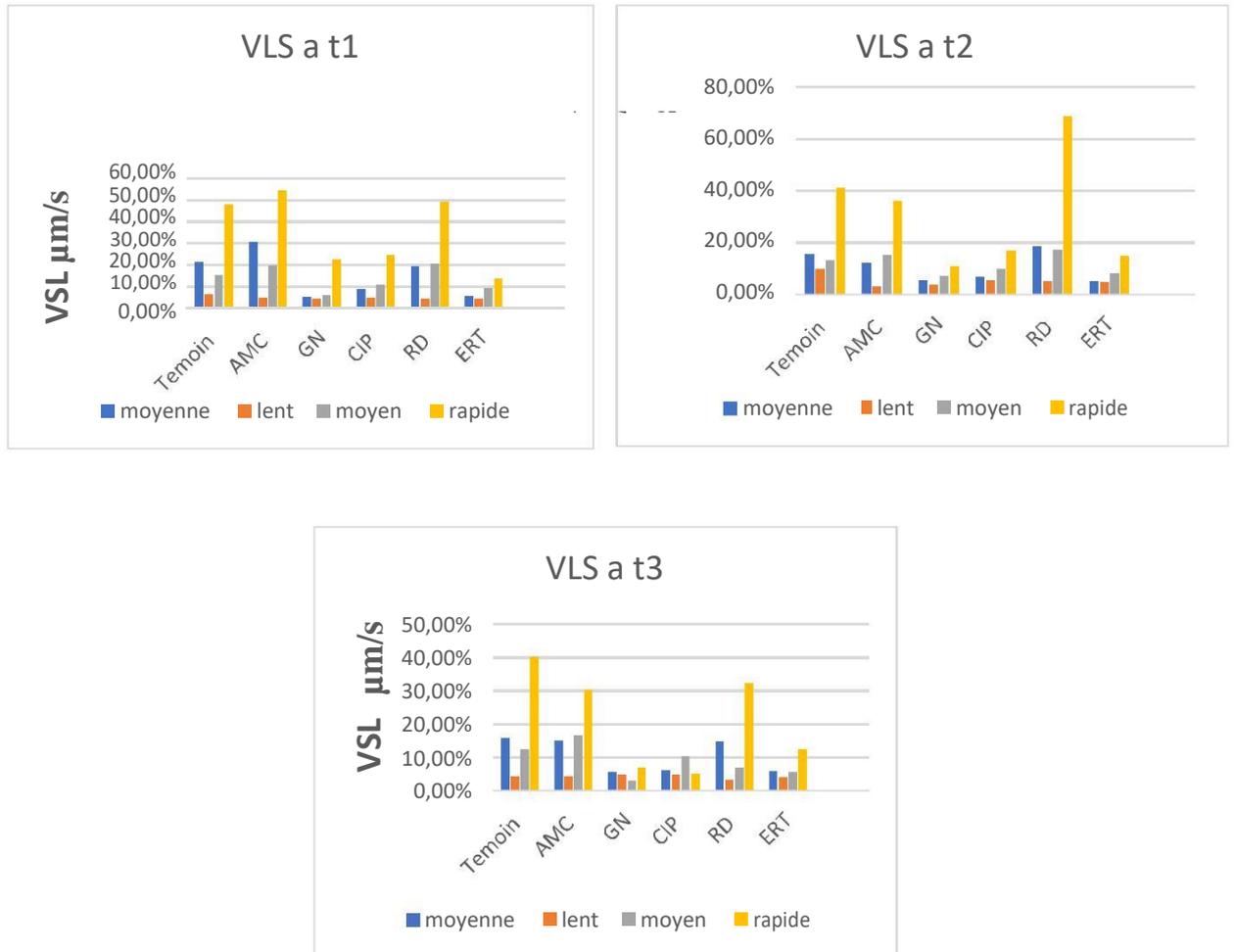


Figure 17 : Evolution de la VSL des spermatozoïdes Co-incubés avec les antibiotiques (AMC, GN, CIP, RD, ERT) en fonction du temps+ lot témoin.

A T1 et T3 : Nous avons noté une diminution de la VSL par rapport au lot témoin excepté pour les AMC ou la VSL est augmentée.

A T2 : On remarque une augmentation significative de la VSL des spermatozoïdes Co-incubé avec les ED.

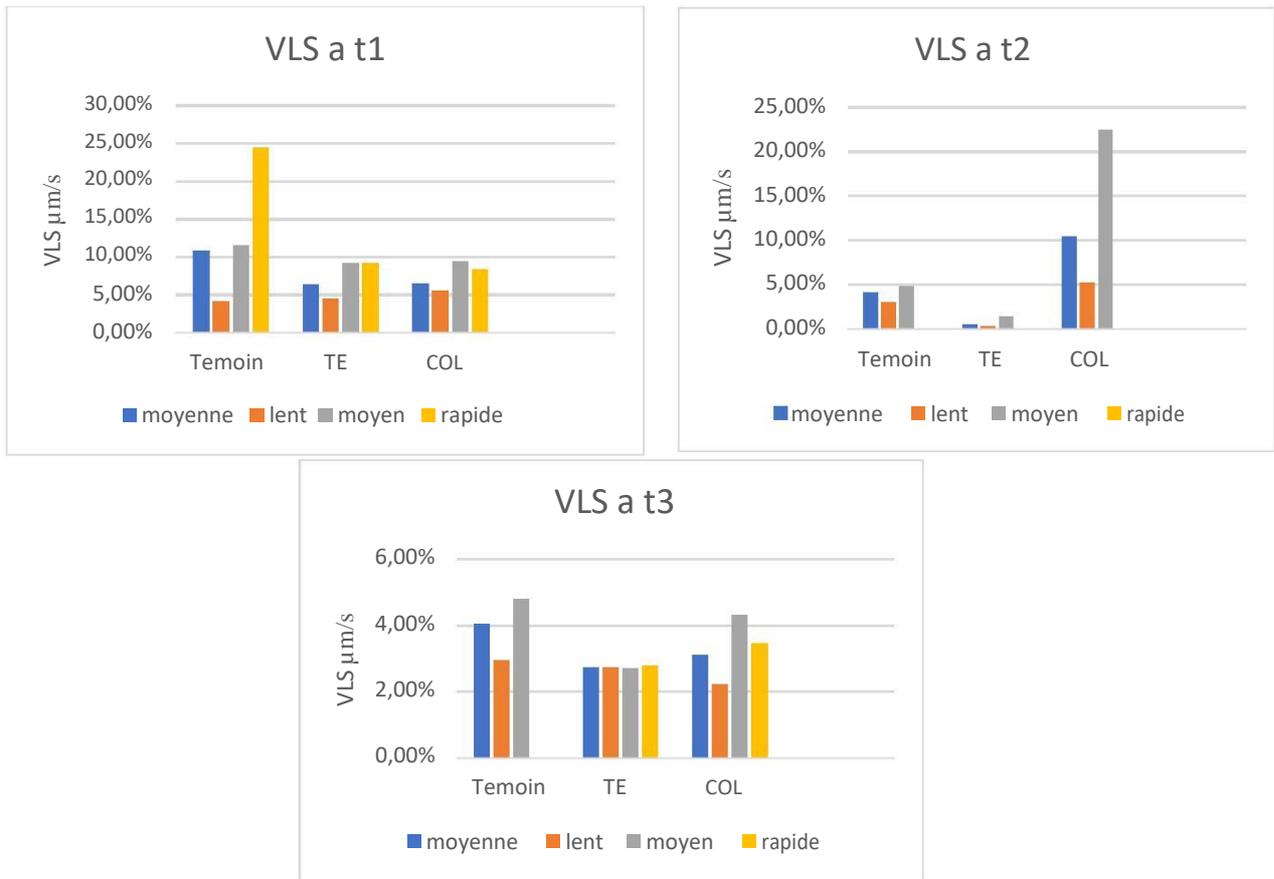


Figure 18 : Evolution de la VSL des spermatozoïdes Co-incubés avec les antibiotiques (TE, COL) en fonction du temps +lot témoin.

A T1 : On a enregistré une importante diminution de la VSL par rapport au lot témoin.

A T2 : A ce stade la VSL est stationnaire.

A T3 : On a remarqué une reprise à nouveau la VSL surtout de la semence Co-incubé avec les COL et les TE.



Figure 19 : Evolution de la VSL des spermatozoïdes Co-incubés avec antibiotique (SMX) en fonction du temps +lot témoin.

Les résultats illustrés par la figure 19 montre une diminution de la VSL a T2 et T3 avec SMX par rapport au lot témoin.

3.4 la concentration :

les concentrations des spermatozoïdes Co-incube avec des antibiotiques sont représentés par les tableaux 1, 2, et 3 :

Tableau 01 : Concentration des spermatozoïdes durant la période de Co-incubation avec l'antibiotique SMX + lot témoin.

Concentration des spermatozoïdes en M/ml			
Temps \ ATB	Témoin	SMX	
T1	66,60	62,81	
T2	43,09	28,76	
T3	20,43	9,08	

On constate une diminution progressive de la concentration des spermatozoïdes durant la période de Co-incubation avec les SMX comparativement au lot témoin (tableau 1).

Tableau 02 : Evolution de la concentration des spermatozoïdes durant la période de Co- incubation avec les antibiotiques (TE, COL) + lot témoin.

Concentration des spermatozoïdes en M/ml				
Temps \ ATB	Témoin	TE	COL	
T1	9,08	14,27	9,08	
T2	5,43	0,00	2,27	
T3	0,00	2,27	9,08	

On note une diminution importante de la concentration spermatique Co-incubé avec les TE et COL : Cependant on a remarqué une nuance au niveau de la concentration qui était nulle a T2 avec la TE puis du coup il y a eu une augmentation a T3. Ceci est expliqué par une mauvaise manipulation a T2 puisque on a omis certainement d'agiter l'Eppendorf à l'aide du vortex.

Tableau 03 : Concentration des spermatozoïdes durant la période de Co-incubation avec les antibiotiques (GN, E, AMC, RD, CIP) + lot témoin

Concentration des spermatozoïdes en M/ml						
Temps \ ATB	Témoin	GN	E	AMC	RD	CIP
T1	0,76	13,62	12,05	0,76	0,76	38,60
T2	0,76	83,09	3,03	6,05	1,51	15,89
T3	0,00	5,30	6,81	3,03	2,27	10,59

A partir du tableau 3 :

Comparativement au témoin qui présente une concentration en diminution, on a enregistré une augmentation lors de la Co-incubation avec les GN et AMC a T2, par la suite on note une légère augmentation a T3.

On a remarqué une diminution de la concentration spermatique durant la Co-incubation avec les ERT a T2 et une augmentation modérée a T3.

Pendant la Co-incubation des spermatozoïdes avec la CIP on a noté une diminution progressive a T2 et T3.

On a enregistré une augmentation considérable de la concentration spermatique lors de la Co-incubation avec les RD.

4. Discussion :

Les endométrites subcliniques sont traitées par des antibiotiques selon deux méthodes : la 1^{ère} est : de traiter et inséminer au même temps ; la seconde : traiter, laisser reposer, 21 jours après inséminer.

Quelques études antérieures, menées *in vivo* et *in vitro*, ont démontré que les antibiotiques affectent négativement la cellule spermatique c'est-à-dire on peut avoir un échec d'insémination artificielle suite au traitement qui se fait au même temps que l'insémination.

Globalement, les résultats obtenus par la présente étude ont démontré que le traitement des spermatozoïdes avec les antibiotiques a induit un effet altérant sur la mobilité des spermatozoïdes.

L'effet délétère de la tétracycline sur la mobilité spermatique que nous avons trouvé est bien documenté dans la littérature. Cet antibiotique est responsable de l'inhibition de la capacitation des spermatozoïdes et de la réaction de l'acrosome. En effet, sa capacité à chélater le calcium peut être très pertinente car le calcium n'est pas seulement impliqué dans l'initiation du mouvement des spermatozoïdes des mammifères matures, mais il est également crucial pour l'hyperactivation (Yanagamachi, 1994).

En plus, ce médicament est un fluorophore : il se lie avidement au spermatozoïde humain. Cette liaison peut présenter, en réalité, une obstruction physique à la motilité (Ericsson et Baker, 1967). D'autres études ont également montré que la dose thérapeutique de la TE provoque un effet spermato toxique et testiculaire chez les rats males par l'induction du stress oxydatif (Ebenezer et *al.*, 2008).

Notre exposition *in vitro* des spermatozoïdes aux CMI de la GN a induit une altération significative de leur mobilité. Les études réalisées par Narayana (2008) et Aral et *al.* (2008) *in vivo* ont montré les mêmes résultats.

La co-incubation des spermatozoïdes avec érythromycine, rimphampicine, ciprofloxacine et sulfamethoxazole que nous avons fait a démontré une altération de tous les paramètres de mobilité des spermatozoïdes. Cependant les études réalisées par (Hargreaves et *al.*, 1998) ont démontré une amélioration significative de ces derniers.

Les mêmes résultats ont été démontrés pour la rifampicine et la colistine. Des études ont été rapporté dans la littérature parlant sur un phénomène qui est l'agglutination des spermatozoïdes. Le phénomène d'agglutination a été observé lors de la co-incubation par ces deux antibiotiques et étudié par plusieurs auteurs.

Ces derniers ont démontré que l'agglutination des spermatozoïdes peut entraîner une diminution de la mobilité, une mauvaise pénétration de la glaire cervicale, une influence sur la sélection au niveau du tractus génital, une entrave à une capacitation et enfin, une inhibition de la fécondation de l'ovule (De Muylder et *al*, 1984).

La co-incubation avec l'amoxicilline + acide clavulanique a induit une altération mais jusqu'à maintenant aucune étude n'a démontré cela. L'étude réalisée par Hargreaves et *al*. (1998) sur l'amoxicilline seule n'a démontrée aucun effet notable sur la mobilité.

Conclusion :

Le présent travail s'est fixé comme objectif principal l'investigation de l'impact des antibiotiques sur les paramètres de mobilité spermatique *in-vitro*. Pour ce faire, nous avons choisi ceux qui sont les plus utilisés en routine vétérinaire pour le traitement des endométrites subclinique. En fait certaines causes des échecs répétés de l'insémination sont imputables aux effets néfastes de l'antibiotique sur la cellule spermatique.

Les antibiotiques sont responsables de la souffrance cellulaire soit sur les spermatozoïdes lors de l'insémination artificielle ou encore lors de traitement effectué sur les reproducteurs males quel que soit l'espèce y compris l'humain. Les faits ont été confirmé par nos résultats obtenus par le système CASA ou nous avons démontré une altération des spermatozoïdes co-incubés avec l'antibiotique.

Recommandations :

La stratégie thérapeutique que nous voulons prescrire au début est à proscrire. Finalement, la meilleure approche est de traiter la vache, la laisser se reposer pour la remettre en reproduction le cycle prochain.

D'autres travaux sont nécessaires pour savoir comment ces résultats s'appliquent à la santé animale et humaine. Dans un contexte où les résistances aux antibiotiques représentent un problème croissant, la compréhension de l'action des antibiotiques sur l'environnement cellulaire est particulièrement importante.

Aussi le vétérinaire cabinard qui pratique de l'insémination artificielle doit préserver soigneusement sa semence car à force de sortir les paillettes du BT et les remettre à chaque fois qu'il doit inséminer, altère progressivement la qualité de la semence comme nous l'avons remarqué avec les paillettes qui nous ont été attribuées par le vétérinaire praticien avec une qualité médiocre 37% de motilité sachant qu'elles proviennent du même centre d'insémination CIAAG, comparativement avec celles qu'on avait au laboratoire LBRA où la motilité était à 99% et 78% de deux lots différents.

- A.R. PETERS, BA, DV et Med, Phd, FRCVS, FIBiol .,2004. Reproduction in cattle third
- Amman, R.f., 1970.sperm production rates », In « the testis », Johnson, Gomes and -- vandemark, New York, Academic press, vol.1 : 433-472.
- Arthur, G.H, Noakes, D.E, Pearson, H.,1993. "The puerperium and the care of the newborn. Veterinary reproduction and obstetrics". VIth ed., Philadelphia, Baillière Trindall). 161-166.
- Aubadie-Ladrix, M ., 2005. « Non délivrance et métrite chez la vache laitière » Point Vet, 36, (259), 42-45.
- Bangham, A., 1961.electrophoresis characteristics of ram and rabbi spennatozoa, 155,292-305.
- BARONE, R. 1990. Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 4. Splanchnologie Appareil uro-génital. Fœtus et Annexes. Péritoine et topographie abdominale.
- Baronne R. Chapitre II,2001. Appareil génital mâle. In : Anatomie compare des mammifères domestiques. Tome 4. Splanchnographie II. Vigot 2001, 83-250.
- Battelier, F., 1997.identification, purification et mécanisme d'action d'élément contenu dans le lait, agissant sur les spermatozoïdes équins. Thèse présentée a l'université Rabelais de tours.
- Chassagne, M, Chacornac, J.P., (1994). Marqueurs du risque nutritionnel de la rétention placentaire : utilité des analyses sanguines en fin de gestation. Vet. Res., 25, 191-195.
- Chenoweth,p.,2007. Clinical reproductive anatomy and physiology of the bull.,217.
- Cheong, S. H., D. V. Nydam, K. N. Galvao, B. M. Crosier, and R. O. Gilbert. 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 94(2):762-770.
- Cheong, S. H., D. V. Nydam, K. N. Galvao, B. M. Crosier, and R. O. Gilbert. 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 94(2):762-770.
- Chtelain.E., 1986.Anatomie descriptive de l'appareil génital du taureau & Ins 214 ; p5-18.
- Dadoune et demoulin A.,1991. Structure et fonction du testicules (dans la reproduction chez le mammifères domestique et l'homme de Charles Thibault et M.C. Levasseur Edition Marketing INRA :221-26.8.

- Dadoune, J-P., 1998. « Histology ». Médecine-Science. Flammarion. P462.
- Davis, R.O., Katz, D.F.1993.operational standards for CASA instruments. Journal of andrology, 14,385-394.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2010. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. J. Dairy Sci. 93(11) :5225-5233.
- Ebenezer, O., Farombi, M.C., Ugwuezunmba., Teclar, T., Ezenwadu., Matthew, O., Oyeyemi Ed. Vigot, Paris : 951 p.
- Edition P. J.H BAHLL Bsc Phd, Page 16,17,18,19,20.
- Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm
- Ericsson, R.J., Baker, V.F., 1967. Binding of tetracycline to mammalian spermatozoa.
- et Martins E., 2008. Toxicité sur la reproduction induite par la tétracycline chez les rats mâles: effets de la vitamine C et de la N- acétylcystéine. Pathologie expérimentale et
- Evans R.W. A.C, Davies, F. J, Bowman, P, Rawlings, N.C., 1995.difference in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls and changes in semen characteristics at puberty. Therio, 43 : 569-578.
- function in vitro. Human Reproduction vol.13 no.7 pp.1878–1886.
- George G., 1996. « Cours d’histologie ». Cours du PCEM.
- Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb, and M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology 64(9) :1879-1888.
- Hargreaves, C.A., Rogers S., Hills, F., Rahman F., Howell, R. J.S, et Homa S.T., 1998).
- Hirsbrunner, G, Knutti, B, Liu I, Ku U, Scholtysik, G, & Steiner, A.2002. An in vivo study on spontaneous myometrial contractility in the cow during estrus and diestrus. Anim Reprod Sci. 70. 171–180.
- Kamimura, S, T. Oui, M. Takahashi, and T. Tsukamoto.1993. “Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows”. J. Vet. Med. Sci. 55.643–647.

- Kasimanickam, R, Duffield, TF, Foster, R.A, et *al.*2004. "Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows". *Theriogenology*: 62 (1-2), 9-23.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. J. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.* 46(3) :255-259.
- KOLB, E., 1975. *Physiologies des animaux domestiques*. Ed. Vigot Frères Paris (Ed.) : 974 p.
- Larouche G. (2001). *Les quinolones : des années soixante à aujourd'hui*. *Pharmactuel*. Vol.34, N2
- LeBlanc, S.J, Duffield, T.F, Leslie, K.E., et *al.*2002. "Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows". *J Dairy Sci*: 85 (9), 2223-2236.
- Leblanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., et *al.*, 2002. "Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows". *J Dairy Sci*: 85 (9), 2223-2236.
- Mc Donald, ME., 1980. *Veterinary endocrinology and reproduction*. Lea et Febiger ed third 560p.
- Narayana, k., 2008. An aminoglycoside antibiotic gentamycin induces oxidative stress, *Nature*, 214, 403–404.
- Okano, A, Tomizuka, T.,1987. "Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow".
- Page C P, Curtis M J, Walker M J, Sutter M C. (1999). *Pharmacologie intégrée*, 1999, 1ere édition, édition de Boeck universite s.a. de Boeck. Paris. Pages : 606. Isbn : 9782744500152.
- Parez et Duplan. 1987. *l'insemination artificielle bovine (reproduction et amélioration génétique)*. Edité par I.T.E. B et U.N.C.E.A. paris (France). p17-82
- Parez et Thibier. 1983 : « contrôle de la fonction sexuelle chez le jeune taurillon »
- physiology of reproduction*, 2nd edn. raven press, new york, pp. 317-318.
- Portier H, Grappin M. (1999). *Thérapeutique pour le pharmacien*. Édition Masson.
- reduces antioxidant reserve and impairs spermatogenesis in rats .*the journal of toxicological*

sciences .vol 33.no 1, 85-96.

- SETCHELL, B.P. 1991.Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T. (Ed.)
Reproduction in domestic animals. 4th Ed., Academic Press, Inc. San Diego. New York. Boston.
London. Sydney. Tokyo : 670 p.
- Slama, H, Vaillancourt, D, Goff, A.K. 1991. "Pathophysiology of the puerperal period:
relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow".
Theriogenology, 36. 1071-1090.
- Tainturier,D.,1995.« Améliorer les rendements .la dépêche vétérinaire » N°
:433 -Taveau, J., 2013.vache -échographie-gynécologie-cycles-gestant.
- Thibault C., 2001.La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses 2001.
- Thibault, C. Levasseur, MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris
- Thibault., 1993. « La reproduction des vertébrés ».
toxicologique.Volume 60, Numéro 1, Pages 77-85.
- Vaissaire, J-P., 1977. Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et
de laboratoires. MALOINE S.A.
- Verstegen, J., Iguer-Ouada, M., Onclin, K., 2002.computer assisted semen analysers in
andrology reserch and veterinary practice. Theriogenology, 57,149-179.
- Yanagamachi, R., 1994. Mammalian fertilization. In knobil, e. and neill j.d. (eds), the