

# UNIVERSITÉ DE SCIENCES AGRONOMIQUES ET MÉDECINE VÉTÉRINAIRE DE BUCAREST

2019

## THÈSE DE DOCTORAT

### *L'OPTIMISATION DE LA MÉTHODOLOGIE DE DIAGNOSTIQUE ET DE TRAITEMENT DANS L'INFÉCONDITÉ D'ORIGINE UTÉRINE ET VAGINALE CHEZ LA VACHE*

Coordonateur scientifique: Prof. univ. Dr. Ion Alin BÎRȚOIU  
Prof. univ. Dr. Alexandru ȘONEA

Doctorant: Nicolae Tiberiu CONSTANTIN

**Mots clé:** vache, indices reproductifs, vulvovaginites, cervicites, endométrites

## RÉSUMÉ

La thèse intitulée „*L'optimisation de la méthodologie de diagnostique et de traitement dans l'infécondité d'origine utérine et vaginale chez la vache*” contient 183pages, étant structurée dans deux parties distinctes.

La première partie a 46 pages et elle porte sur **L'état actuel des connaissances**. Elle est divisée en 3 chapitres qui décrivent les données les plus actuelles sur le thème de l'étude, des données corrélées avec des informations consolidées du passé.

Le premier chapitre (*«Le statut immunologique de l'utérus bovin pendant la période puerpérale»*) a trois sous-chapitres et présente des détails nouveaux sur l'immunité de l'utérus bovin pendant la période puerpérale. On décrit premièrement la période critique que les vaches

traversent au moment de la parturition en étroite corrélation avec leur nécessaire nutritionnel. En même temps, la contamination de l'utérus puerpéral avec de divers germes est assez courante à cause des phénomènes physiologiques ayant lieu à ce moment. La relaxation de la vulve et l'ouverture du col permettent le passage d'une population significative de germes à différents degrés de pathogénicité tels que *l'Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Fusobacterium* spp..

Un autre thème de ce chapitre porte sur les moyens par lesquels l'appareil génital se protège pendant la période postnatale face aux différents agents pathogènes. On a décrit successivement, du niveau macroscopique au niveau microscopique, les barrières qui limitent l'ascension des germes pathogènes. Les premières sont représentées par les composantes du tracte copulateur où on décrit la temporalisation de la clôture du col utérin et l'activité de la vulve.

Au niveau microscopique, on décrit les cellules polymorphonucléaires qui favorisent la phagocytose le non-self, les immunoglobulines qui aident à la neutralisation directe des bactéries dans le col utérin, et au niveau moléculaire on a décrit la connexion entre mes molécules associées aux pathogènes et le modèle de reconnaissance de ceux-ci. Ce dernier est représenté principalement par les récepteurs Tool-like qui sont responsables pour la reconnaissance de différentes substances sur la surface des antigènes.

Le deuxième chapitre, intitulé « *L'infécondité d'origine vulvovaginale* », porte sur les affections au niveau du canal vuvlovaginale qui peuvent provoquer des infécondités.

La littérature de spécialité note peu d'articles qui concernent l'importance de ces affections dans l'activité de reproduction chez la vache de lait.

Quand même, on a décrit les vulvovaginites d'origine mécanique (générées à la suite des parturitions dystociques ou de certaines infections) et celle d'origine infectieuse (bactériennes et virales).

Le plus gros chapitre de la première partie est le troisième (« *L'Infécondité d'origine utérine* »), qui décrit les liens entre la production et la reproduction, mais aussi les plus importantes affections qui représentent le facteur déterminant de l'infécondité ou de l'infertilité utérine chez la vache.

On présente la liaison étroite entre l'activité de reproduction et la nutrition, qui confirme la prémisse conformément à laquelle un niveau bas du pH du rumen est associé à des dystocies, des

mérites et des fourbures. Un autre marker des infections utérines à 5 et 7 semaines post-partum peut être le niveau bas de glucose avant l'accouchement.

Pendant la période de transition, l'importance de la nutrition réside dans le fait que les aminoacides sont nécessaires afin d'exporter la graisse du niveau du foie sous forme de lipoprotéines. Au long des années, on a essayé à réduire la période de sevrage à moins de 60 jours. Cela a eu un impacte bénéfique à court terme par l'amélioration des paramètres reproductifs. Par contre, à partir de la deuxième lactation, cette stratégie a eu comme conséquence un échec reproductif.

Les cervicites ont été les premières affections sur lesquelles on s'est penché dans ce chapitre, du point de vue théorique. Par sa topographie, le col utérin est accessible à de nombreux facteurs traumatiques et infectieux pendant la parturition mais aussi après l'accouchement.

En parcourant les peux sources bibliographiques existantes, on a décrit les manifestations cliniques des cervicites, leur impacte sur l'activité de reproduction mais également les méthodes de diagnostique appliquée jusqu'à ce moment.

L'aspect suivant du troisième chapitre a traité les informations le plus actuelles sur les mécanismes qui favorisent la production de la rétention placentaire tel que; la parturition induite, la réduction de la gestation, les avortements, la grossesse gémellaire, les dystocies, les fetotomies, la césarienne, les carences nutritionnelles telles que la carence en vitamine E, en sélénium et en carotènes, les agents infectieux etc. Etroitement liée à la nutrition, la rétention des annexites a été évaluée, par certains auteurs, à travers des modifications de certains markers métaboliques (les acides grasses non estérifiés et le  $\beta$ -hydroxybutyrate) et leur impact sur la suppression de la réponse immune. Les différents protocoles de traitement ont été décrits afin de minimiser l'impact négatif de cette affection sur le statut productif et reproductif des vaches.

Pour ce qui est de la période puerpérale, l'une des plus sévères formes d'infécondité est la métrite toxique, une affection qui affecte d'une manière systémique les vaches dans les premières deux semaines après l'accouchement. L'une des modalités les plus précises de prédiction est représentée par le dosage du rapport entre les acides grasses non estérifiés et le cholestérol circulant, un rapport qui peut être appliqué pas plus de deux semaines avant la date estimée de la parturition.

Les animaux qui ne manifestent pas de signes généraux de maladie mais qui présentent un volume élevé de l'utérus et des sécrétions vaginales fétides de couleur rouge-marron après 21 jours après l'accouchement, sont considérés comme ayant de la métrite clinique. Cette affection a un effet négatif sur les performances reproductives : un retard dans la reprise de la cyclicité après l'accouchement, la perturbation de l'environnement utérin et des perturbations sur le développement embryonnaire. En même temps, la diminution d'ingesta réduira l'énergie nécessaire à la production de lait.

Les sous-chapitres 3.6 et 3.7 sont largement traités parce qu'ils soutiennent la base théorique de la recherche dans la deuxième partie de la thèse. On discute ici des aspects concernant les endométrites cliniques et sous-cliniques, des aspects qui portent sur l'étiologie, la sévérité de ces maladies, les méthodes de diagnostic clinique et para clinique et les modalités de traitement.

Le dernier chapitre est dédié aux nouvelles liées à l'étiologie, le diagnostic et le traitement du pyomètre chez la vache. Par rapport à d'autres maladies, les données sur le pyomètre n'apportent pas d'éléments de nouveauté par l'application des protocoles innovants de diagnostic et de traitement.

La section de **Recherches personnelles** est la plus ample de la présente thèse du point de vue du contenu, où il y a des détails sur les recherches réalisées afin de remplir les objectifs envisagés.

Le premier chapitre de cette section est le quatrième (« *Le but des recherches et la description du cadre institutionnel de déroulement* ») où on décrit l'objectif et la motivation de l'étude dans le contexte actuel de propagation globale.

Le but de la thèse a visé à identifier les affections qui provoquent l'infécondité au niveau de l'appareil génital inférieur, en utilisant des méthodes biotechniques de diagnostic. Le même but a observé l'examen et la mise en place de différentes méthodes de traitement, dont une partie innovantes, afin de limiter l'impact négatif sur la fonction reproductive.

Parmi les buts envisagés on mentionne: composer des groupes d'animaux nécessaires afin de réaliser les études, de sorte qu'elles soient représentatives et suffisamment importantes pour pouvoir tirer des conclusions pertinentes, évaluer la période postnatale chez les vaches de lait de la race Montbéliard et Holstein Frise, identifier des affections du trajet copulateur et mettre en évidence leur influence sur l'activité de reproduction chez les primipares et les multipares, diagnostiquer les cervicites par l'application de nouveaux protocoles (certains entre eux en

première dans notre pays), diagnostiquer les endométrites – à travers de différentes techniques – chez les vaches de lait de la race Holstein, appliquer des protocoles innovateurs de traitement (toujours une première pour notre pays) chez les vaches présentant des endométrites cliniques et calculer les indices reproductifs afin de certifier les méthodes de diagnostic utilisées, d'évaluer l'efficacité des traitements appliqués et rendre la fonction reproductive plus efficace.

Dans ce même chapitre on a décrit la période, l'endroit où les recherches se sont déroulées et les lieux ou les échantillons ont été traités.

Le cinquième chapitre, intitulé « *Des recherches sur l'étiologie et le diagnostic des vulvovaginites chez la vache* » s'est fixé comme objectif l'établissement de l'incidence et de l'impact négatif sur la fonction reproductive des blessures qui peuvent apparaître au niveau du trajet vulvovaginale. On a effectué des études sur 1772 vaches (primipares et multipares) de trois fermes de profil dans le sud de la Roumanie. Dans le cadre de l'étude déroulée entre 2014 – 2017, on a observé le nombre annuel d'accouchements, l'assistance à l'accouchement, le nombre d'accouchements par femelle, le nombre d'accouchements gémellaires et le sexe du fœtus. Toutes ces données ont été nécessaires afin d'identifier les causes qui avaient déterminé l'apparition de différentes affections de la vulve, vestibulaires ou vaginales de nature mécanique.

Après la parturition, par observation et palpation, on a identifié des lésions telles que: l'œdème et l'infiltration, les blessures de ce trajet, la vaginite nécrotique, la fistule vulvovaginale et vulvite granuleuse.

Juste un pourcentage de 7,95% du nombre total de 1772 femelles nées a été affecté par une ou plusieurs pathologies au niveau du trajet vulvovaginal (v.v.v.). Les parturitions de fœtus masculins ont produit de différents types de pathologies v.v.v. dans un pourcentage de 5,75% et 4,90% ont résulté à la suite des accouchements de fœtus femelles. 0.16% ont été des parturitions gémellaires.

Le meilleur résultat du taux de conception de la première insémination (plus de 30%) a été enregistré dans la ferme II, où la groupe est composée par des vaches de race Montbéliard, et le plus bas dans la ferme I (20,49%).

Compte tenant de l'incidence de certaines affections v.v.v., on peut affirmer que les plus fréquentes maladies sont l'œdème et l'infiltration v.v.v., suivies par les lésions v.v.v. ; la fistule vulvovaginale a enregistré la moindre incidence.

On a proposé des recommandations telles que l'établissement du plan de correspondance des paires ou la mise en place d'un système d'assistance à l'accouchement afin de prévenir l'occurrence des accidents et/ou leur remède.

Le sixième chapitre (« *Des recherches sur le diagnostic des cervicites chez la vache* ») a eu comme objectif de mettre en évidence la fréquence des cervicites et le diagnostic de celles-ci à travers de différentes méthodes. L'étude a été faite sur 113 vaches de race Holstein, dans une ferme du département de Prahova.

Les femelles ont été évaluées par palpation transrectale, par examen du speculum vaginal et par examen cytologique endocervical. Ces examens ont eu comme but la collection de données sur le col utérin telles que: la consistance et le diamètre cervical, l'aspect de la muqueuse de la *fornix vaginalis* et le nombre de cellules polymorphonucléaires au niveau de la muqueuse cervicale.

De même, on a décrit la technique de travail afin de réaliser l'anesthésie épidurale chez la vache et la technique de l'examen cytologique par l'utilisation du tampon au coton et de la brosse des cellules provenant de la structure de la muqueuse cervicale.

En utilisant la méthode transrectale, on a diagnostiqué un col saint chez 93,54% des primipares, respectivement 93,58% des multipares; seulement 1,83% des primipares et 4,58% des multipares ont présenté un col dur à un diamètre inférieur à 7 cm.

Par le biais de la vaginoscopie, on a mis en évidence le deuxième plier œdémateux, entaillé et hyperémique chez 12,90% des primipares et 28,20% des multipares, celle-ci représentant la situation la plus grave.

On a obtenu, par la technique cytobrush, 109 lamelles dont l'examen a montré que 28,44% (31) des animaux ont été diagnostiqués avec cervicite (PMN  $\geq$  5%), et le reste ont été négatives (PMN < 5%). En utilisant la technique du tampon en coton, que des cellules épithéliales et du mucus cervical ont été étalés.

A la fin du chapitre, les recommandations ont porté sur l'application des méthodes de diagnostic le plus vite possible après l'accouchement et la dotation des fermes avec un minimum nécessaire afin de réaliser la coloration et l'évaluation des frottis cervicales.

Dans le septième chapitre, intitulé « *Des recherches sur le diagnostic des endométrites sous-cliniques chez la vache* » on s'est fixé comme but la stadification des endométrites sous-cliniques par l'intermède de différentes techniques de diagnostic et, de même, de voir s'il y a une

corrélation entre les vaches qui présentent des cervicites et celles qui présentent des endométrites sous-cliniques.

Dans le cadre de la recherche, on a observé les mêmes animaux que ceux pour l'étude antérieure, auxquels on a examiné les corps et les cornes utérines pendant le repos volontaire et au moment ou insémination artificiel en utilisant l'examen palpatoire transrectal, l'examen cytologique endométrial, l'examen biopsique, l'examen microbiologique, l'examen échographique transrectal, l'examen à travers duquel on apprécie l'activité de l'estérase leucocytaire et l'examen White side.

On a observé que la palpation du col et de l'utérus chez les primipares présente une corrélation de 0,97, ce qui conduit à la conclusion que les endométrites sont associées aux cervicites dans le cas des multipares de race Holstein tandis que, dans le cas des primipares, les cervicites peuvent apparaître indépendamment des inflammations utérines. Pour ce qui est du résultat cytologique endocervical et de celui endométrial, on enregistre une corrélation basse entre les deux chez les primipares (0,47) et une corrélation haute chez les multipares (0,99). En appliquant l'examen bactériologique, on a identifié 4 types de bactéries Gram-négatives et 8 types de bactéries Gram-positives, la plus fréquente étant *l'Eschirichia coli*, suivie par le *le Staphyoloccocus hyicus*.

A la suite des évaluations de tous les résultats, on a tiré la conclusion que la plus précise méthode de diagnostic des endométrites sous-cliniques reste l'examen histopathologique de l'endomètre.

En ce qui concerne les indices reproductifs, la période de repos volontaire accepté a été de 84,72 jours chez les vaches à endométrite sous-clinique sévère, et le taux de conception premiere insémination artificiel a enregistré un pourcentage de un pourcentage de 36,50% pour la même catégorie d'animaux.

Dans le huitième chapitre (« *Des recherches sur l'endométrite chez la vache* »), on a décrit cinq protocoles de traitement appliqués sur un nombre de 133 vaches diagnostiquées avec endométrite clinique. Les résultats de l'efficacité ont été comparés avec ceux des 52 vaches témoins, en utilisant les paramètres reproductifs.

La nouveauté de ce chapitre est l'application du traitement avec ozone et N-acétylcystéine, complémentirement à d'autres produits traditionnels représentés par des complexes

d'antibiotiques ou antiseptiques ou par ceux à base d'extraits de plantes ou avec des enzymes protéolytiques.

Le protocole de traitement le plus efficace a été celui dans lequel on a utilisé une combinaison d'antibiotiques, d'antiseptiques et de N-acétylcystéine, en obtenant le plus haut taux de conception de la première insémination artificielle (63,1 %) et le plus court service-period (93 jours) pendant la période de l'étude. Le moins efficace traitement a été enregistré chez le groupe de vaches auxquelles on a administré l'extrait de plantes (un taux de conception de la première insémination artificielle de 37,2% et un service-period de 121,5 jours).

Parmi les recommandations de ce chapitre, on note la mise en place d'un traitement avec antibiotiques, antiseptiques et N-acétylcystéine le plus rapidement possible pour les femelles qui présentent des endométrites cliniques.

Le neuvième chapitre est dédié aux « *Conclusions générales et aux recommandations pratiques* » et il a comme but de synthétiser le plus précisément possible les résultats obtenus à la suite des recherches entreprises afin de souligner les objectifs envisagés.

*La bibliographie* de cette thèse figure dans le dixième chapitre où on énumère 294 sources bibliographiques. Parmi celles-ci, 258 sources représentent des articles parus dans différentes revues scientifiques de profil, 6 des livres en matière et 3 des thèses de doctorat. Sur un total de 258 articles, ceux parus à partir de 2016 représentent 40% et ceux parus entre 2009-2015, 38%. Il en résulte donc que plus de 78% des sources bibliographiques datent des derniers 10 ans.

Comme éléments d'originalité de cette thèse, on souligne :

- la réalisation d'une étude minutieuse sur l'incidence des lésions au niveau du trajet vulvovaginal et leurs conséquences sur la reproduction ;
- la présentation de données sur l'incidence des cervicites à la fin de la période post-partum ;
- l'élaboration de méthodes de diagnostic afin d'identifier d'une manière moderne les cervicites et les endométrites sous-cliniques ;
- la mise en place de protocoles de traitement innovateurs tel que celui avec ozone sous forme de spray ou celui avec solution de N-acétylcystéine.