

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur
en
Médecine vétérinaire

**Etude de l'identification et de la sensibilité des souches
bactériennes responsables de pyomètre chez les chattes et
les chiennes**

Présenté par :

Melle KEDJA Sirine

Soutenu publiquement, le 15 septembre 2022 composé de :

Président : Mme TENNAH.

Promoteur : Mme BOUABDALLAH.

Co-promoteur : Mme AZZAG

Examineur : Mr LAAMARI.

Professeur (ENSV)

Maître de conférences classe A (ENSV)

Professeur (ENSV)

Maître de conférences classe B (ENSV)

2021-2022

Déclaration sur l'honneur

Je soussignée, KEDJA Sirine, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteurs ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'KEDJA Sirine', written in a cursive style.

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu tout puissant de m'avoir donné la force pour réaliser ce travail et l'audace pour dépasser les difficultés.

Ce mémoire est le résultat d'un travail et d'un long effort, pour cela je veux adresser tous mes remerciements à ma promotrice le Professeure « AZZAG.N », pour avoir bien voulu accepté de m'encadrer et de m'accueillir au sein du laboratoire de microbiologie, pour sa patience, sa disponibilité sur tous les plans, son aide. Elle a partagé ses connaissances et son expérience dans le domaine de la bactériologie tout en m'accordant une large indépendance et une grande confiance.

Je tiens d'exprimer mon attitude et ma reconnaissance à ma Co-promotrice le Docteur « BOUABDALLAH.R » pour sa confiance, sa disponibilité, sa présence à tout moment, sa compréhension et son aide précieux. Je vous remercie énormément.

Je tiens à remercier le Professeure « TENNAH.S » d'avoir bien voulu accepter de présider le jury de ma thèse.

Je remercie également le Docteur « LAAMARI.A » de m'avoir fait l'honneur d'examiner mon travail, croyez en mon profond respect.

J'adresse mes remerciements à Mme « BENEFEDDEL » grâce sa présence et son aide tout au long de mon travail au laboratoire de bactériologie de l'ENSV, sans oublier de remercier les vétérinaires privées de m'avoir accueilli et remis leurs dossiers de consultation et plus particulièrement de m'avoir fourni les prélèvements nécessaires pour ce travail.

Au terme de ce travail, je remercie tout le personnel de la bibliothèque de l'ENSV et à tous personnes intervenant dans la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes chers parents, qui m'ont toujours motivé avec ses paroles judicieuses, aujourd'hui et avec tous mes sentiments de respect et de gratitude je vous remercie pour vos soutiens, vos sacrifices, vos prières tout le long de mes années d'études ainsi que votre présence.

Mes chers frères, « Imad » et « Ramy » pour leur encouragement et leur présence à tout moment merci énormément.

Mes amis « Lyna », « Zineb » et « Vanessa », un témoignage d'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous remercie pour votre présence, vos paroles, vos soutiens. Je ne pourrais terminer sans évoquer la présence et le soutien permanent de « Ziad » merci beaucoup.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes amis de l'école et à tous personnes qui m'ont soutenu et encouragé durant ces années d'études.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acides Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

BHIP : Brain Heart Infusion Broth

LPS : Lipo-polysaccharidique

Muc-1 : Mucine-1

PGF2 α : Prostaglandines F2 α

TSI : Triple Sugar Iron Agar

RM : Rouge de méthyle

VP : Voges-Proskauer

Ph : potentiel hydrogène

Ex : exemple

Ml : millilitre

C° : Degré Celsius

H : Heur

J : jour

% : pourcentage

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Appareil génitale chez la chienne et la chatte	2
Figure 2 : Un utérus d'une chienne atteint du pyomètre	6
Figure 3 : les différents modes d'action des antibiotiques	12
Figure 4 : La structure fondamentale de la membrane plasmique	13
Figure 5 : Structure du ribosome.....	14
Figure 6 : Ecouvillonsensemencés dans des bouillons nutritifs BHIB.....	19
Figure 7 : Ensemencement sur gélose nutritive.....	20
Figure 8 : Ensemencement sur Chapman	20
Figure 9 : Observation sous microscope	30
Figure 10 : Résultat de l'ensemencement sur milieu Chapman (A) milieu témoin (B).....	30
Figure 11 : Aspect des colonies bactériennes sur gélose nutritif	31
Figure 12 : Test catalase (A) positif et (B) négatif.....	32
Figure 13 : Test oxydase résultat positif.....	32
Figure 14 : Test TSI	32
Figure 15 : Test Mannitol-Mobilité	33
Figure 16 : Test VP-RM.....	33
Figure 17 : Test urée indole	34
Figure 18 :Test Citrate de Simons	34
Figure 19 : Test ONPG	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : illustre les informations des animaux atteints du pyomètre et la nature du prélèvement.....	29
Tableau 02 : Résultats des ensemencements.....	31
Tableau 03 : Résultats des tests biochimiques.....	35
Tableau 04 : Résultat de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	36

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. L'APPAREIL GENITAL FEMELLE ET SES MOYENS DE DEFENSE AU COUR DU CYCLE SEXUEL	2
1. Etude anatomique de l'appareil génital femelle	2
2. Le cycle sexuel et ses différents stades	2
2.1. Chez la chienne	2
2.2. Chez la chatte.....	3
3. Moyens de défense de l'utérus contre les infections	5
II. LE PYOMÈTRE	6
1. Définition et importance	6
2. Facteurs favorisant le développement du pyomètre	6
3. Pathogénie	8
4. Signes cliniques	9
5. Diagnostic	9
6. Approche thérapeutique	10
III. LES ANTIBIOTIQUES	11
1. Définition.....	11
2. Classification des antibiotiques	11
3. Mode d'action des antibiotiques	12
3.1. Action sur la synthèse de la paroi bactérienne	12
3.2. Action sur la membrane plasmique	13
3.3. Action sur les acides nucléiques	14
3.4. Inhibition de la synthèse des protéines	14
4. La résistance des bactéries aux antibiotiques	15
4.1. L'antibiorésistance	15
4.2. Les types de résistance aux antibiotiques.....	16

4.2.1. Résistance naturelle (intrinsèque).....	16
4.2.2. Résistance acquise	16
4.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique	16
4.2.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène	16
4.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	17
4.3.1. Mécanismes enzymatiques.....	17
4.3.1.1. Les enzymes inactivant les phénicolés	17
4.3.1.2. Les enzymes inactivant les aminosides	17
4.3.1.3. Les enzymes inactivant les Beta-lactamines.....	17
4.3.2. Mécanismes non enzymatiques	18
4.2.2.1. L'imperméabilité : « Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique »	18
4.2.2.2. Système d'efflux : « Résistance par augmentation de l'excrétion d'un antibiotique »	18
4.2.2.3. Résistance par absence de site d'action.....	18
4.2.2.4. Altération des cibles d'antibiotiques	18

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES.....	19
1. Objective de l'étude	19
2. Echantillon et méthode de prélèvement	19
3. Enrichissement et isolement des souches bactériennes	19
3.1. Pré-enrichissement des cultures.....	19
3.2. Isolement des souches bactériennes	20
4. Identification bactérienne.....	21
4.1. Tests d'orientation.....	21
4.1.1. Coloration de Gram	21
4.2. Tests biochimiques	22
4.2.1. Recherche de la catalase	22

4.2.2. Recherche de l'oxydase	22
4.2.3. Catabolisme des glucides	23
4.2.4. Mannitol-Mobilité	24
4.2.5. Milieu Clark et Lubs (VP&RM)	25
4.2.6. Milieu Urée-Indole	25
4.2.7. Milieu Citrate de Simone	26
4.2.8. Test de l'ONPG.....	27
5. Antibiogramme.....	27
II. RESULTAT ET DISCUSSION.....	29
1. Prélèvement.....	29
2. Pré-enrichissement	29
3. Analyse bactériologique	30
3.1. Coloration de Gram	30
3.2. Isolement sur milieu nutritif et Chapman.....	30
4. Résultats des tests biochimiques	32
4.1. Recherche de la catalase	32
4.2. Recherche de l'oxydase	32
4.3. Test TSI	32
4.4. Test Mannitol-Mobilité	33
4.5. Test VP / RM	33
4.6. Test Urée- Indole	34
4.7. Test de Citrate de Simon	34
4.8. Test de l'ONPG.....	35
5. La sensibilité de différentes bactéries aux ATB	36
III. DISCUSSION	37
IV. CONCLUSION ET RECOMMANDATION.....	38
V. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQU	40
VI. ANNEXE	44

Résumé :

La médecine vétérinaire englobe de nombreuses maladies reproductives cliniquement proches mais les causes sont différentes, le pyomètre fait partie d'une de ces maladie qui se définit comme la pathologie la plus fréquemment diagnostiquée en cliniques surtout chez l'espèce canines et félines. Le pyomètre est due à une accumulation de pus dans l'utérus de ces animaux. Il se développe de façon rapide mettant en danger la vie de ces espèces.

Les causes de cette pathologie sont multiples parmi lesquels un dérèglement hormonale, ou bien une infection bactérienne.

L'objectif principal de cette étude de PFE est l'identification des bactéries présentes lors d'un pyomètre et d'étudier la sensibilité de ces dernières vis-à-vis aux antibiotiques utilisés en routine afin de mieux orienter les cliniciens vétérinaires dans le choix du traitement à adopter.

Mots clés : pyomètre, dioestrus, bactéries, antibiorésistance, antibiotiques.

Abstract :

Veterinary medicine encompasses many clinically related reproductive diseases but the causes are different, pyometra is one of these diseases which is defined as the pathology most frequently diagnosed in clinics, especially in canines and felines. The pyometra is due to an accumulation of pus in the uterus of these animals. It develops rapidly, thus endangering the lives of these species.

The causes of this pathology are multiple, including a hormonal imbalance, or a bacterial infection.

The main objective of this PFE study is to identify the bacteria present during a pyometra and to study the sensitivity of these bacteria to the antibiotics used routinely in order to better guide veterinary clinicians in the choice of the treatment to be adopted.

Keywords: Pyometra, diestrus, bacteria, antibiotic resistance, antibiotics.

ملخص

يشمل الطب البيطري العديد من الأمراض التناسلية ذات الصلة سريريًا ولكن الأسباب مختلفة ، تقيح الرحم هو أحد هذه الأمراض التي يتم تعريفها على أنها علم الأمراض الأكثر شيوعًا في العيادات ، خاصة في الكلاب والقطط. يرجع تقيح الرحم إلى تراكم القيح في رحم هذه الحيوانات. الى انه يتطور بسرعة ، مما يعرض حياة هذه الأنواع للخطر.

أسباب هذا المرض متعددة ، بما في ذلك عدم التوازن الهرموني ، أو العدوى البكتيري

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد البكتيريا الموجودة أثناء تقيح الرحم ودراسة حساسية هذه البكتيريا للمضادات

الحيوية المستخدمة بشكل روتيني من أجل توجيه الأطباء البيطريين بشكل أفضل في اختيار العلاج الذي سيتم اعتماده

الكلمات المفتاحية : تقيح الرحم, مرحلة الديوستريس, بكتيريا, المقاومة البكتيرية, مضادات الحيوية

INTRODUCTION

Introduction

Le pyomètre se présente comme étant l'une des pathologies les plus fréquemment rencontré affectant plusieurs espèces animales. Il se caractérise sur le plan clinique, par un gonflement abdominal consécutif à l'accumulation d'un exsudat purulent dans la lumière utérine (Hagman., 2012 ; Santana & Santos., 2021).

La pathogénie du pyomètre est peu ou mal comprise, plusieurs facteurs sont associés au développement de cette maladie. Il y a la mobilité utérine, l'activité des neutrophiles, la concentration en immunoglobulines, le dérèglement hormonale associé au taux élevé de progestérone en période de dioestrus. Il est admis qu'une infection bactérienne peut aussi être un facteur favorisant et déclencheur de développement de ce processus pouvant ainsi entraîner une forme systémique (Hagman., 2012 ; Liao *et al.*, 2020 ; Santana & Santos., 2021). Lors d'un pyomètre, l'espèce *Escherichia colis* est considérée comme la principale bactérie isolée dans l'utérus. D'autre part, un choc endotoxinique mortel peut être développé (Santana & Santos., 2021). Ainsi, il est important de réaliser un diagnostic précoce et une thérapeutique appropriée afin d'éviter une mortalité chez les animaux malades (Liao *et al.*, 2020).

Le choix de l'utilisation des médicaments à titre préventif ou à titre thérapeutique doit être réalisée après une étude de la sensibilité des bactéries en causes vis-à-vis des antibiotiques (Liao *et al.*, 2020).

Dans ce travail, nous avons isolé puis identifié les bactéries présentes lors de cas de pyomètre chez des chiennes et des chattes à l'ENSV d'Alger puis évaluer le caractère de résistance et de sensibilité de ces agents pathogènes aux antibiotiques utilisés en routine.

Ce présent mémoire s'articule en 3 parties : une synthèse bibliographique présentant des notions générales sur le pyomètre, une partie expérimentale décrivant les principales méthodes utilisées et une discussion des résultats obtenus.

PREMIERE PARTIE :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. L'APPAREIL GENITAL FEMELLE ET SES MOYENS DE DEFENSE AU COUR DU CYCLE SEXUEL

1. Etude anatomique de l'appareil génital femelle

L'appareil génital est un système qui assure la fonction de la reproduction chez tous les espèces animales, il est constitué de deux ovaires, deux oviductes, de l'utérus et d'un vagin et ses vestibules (Barone., 2001 ; Smith., 2010).

L'utérus apparait sous forme d'un Y et comprend un corps bref d'une taille de 2-3cm chez la chienne en moyenne et 2cm chez la chatte, (Budras *et al.*, 2007; Fransson., 2012). Il est situé près du bord pubien et peut être situé dans la cavité abdominale et pubienne. Ce corps se poursuit crânialement par 2cornes divergentes longues et minces d'une taille moyenne de 9 à 12cm, (Singh., 2018; Budras *et al.*, 2007). Caudalement, l'utérus est limité par un col très court qui mesure 1cm et qui permet la communication entre le corps utérin et le vagin.

La vascularisation de l'utérus dépend de la branche utérine de l'artère ovarienne et l'artère utérine et de la branche vaginale de l'artère vaginale provenant de l'aorte, ces deux vaisseaux terminent en s'anastomosant dans le ligament large, Les veines ovarienne et utérine, suivent le même trajet que les artères correspondantes (Fransson., 2012; Singh., 2018).

Le drainage lymphatique de l'ovaire et l'utérus se fait au niveau des ganglions lymphatiques hypogastriques et lombaires (Fransson., 2012; Singh., 2018). Le plexus pelvien assure l'innervation sympathique par les nerfs hypogastriques droits et gauche et l'innervation parasympathique, effectuée par les nerfs pelviens (Fransson., 2012).

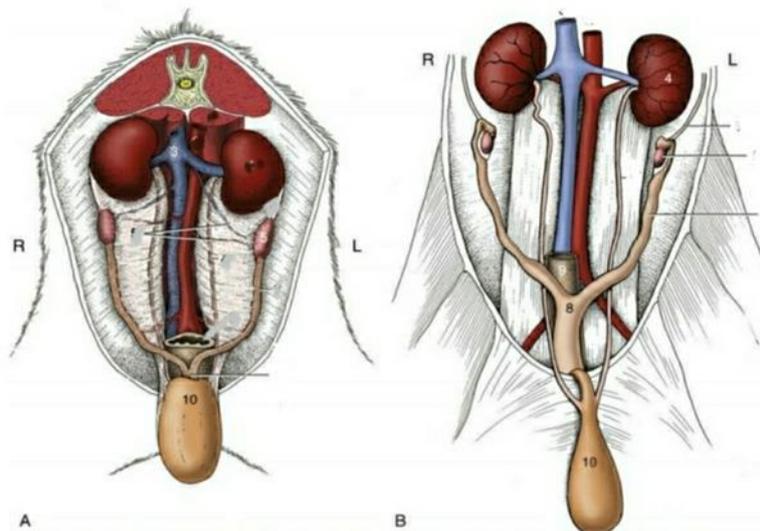


Figure 1. Appareil génital (A) chez la chienne (B) chez la chatte (Singh., 2018)

2. Le cycle sexuel et ses différents stades

Le cycle sexuel (œstral) se définit comme l'ensemble des modifications structurales et fonctionnelles du système reproducteur féminin, ainsi que les modifications comportementales. Ces derniers sont sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire et conduisent à une ovulation spontanée et à l'apparition des chaleurs (Root Kustritz *et al.*, 2010 ; Gillian *et al.*, 2014).

2.1. Chez la chienne

Le cycle sexuel de la chienne est particulier dans le règne animal et la connaissance de ses spécificités permet de comprendre à quel moment celle-ci peut être correctement fécondée et quelles sont les périodes clés à surveiller pendant une gestation ou lors d'une mise au repos. C'est une femelle à reproduction non saisonnée à cycle mono-oestrien (une seule période de chaleurs par cycle avec une ou 2 vagues d'ovulation par an) (Maillard *et al.*, 2014).

Ce cycle apparaît une fois la chienne pubère et est accompagné de modifications comportementales. Ces dernières vont être utiles pour déterminer le moment optimal de l'accouplement, généralement à la fin de l'hiver et au début du printemps (Feldman & Nelson 2004 ; Greer., 2014). À l'âge de 6 à 24 mois on peut dire que la chienne est pubère avec des variations allant de 4.5-10 mois, selon la race. On considère que les races de petit format ont une puberté plus précoce que celles de grande taille (Feldman & Nelson., 2004 ; Root Kustritz., 2010 ; Greer., 2014).

Le cycle de la chienne se déroule en 4 phases successives bien différenciées, 1 le proestrus période d'activité folliculaire accrue qui précède l'œstrus et qui dure en moyenne 9 jours avec une variation de 3 à 17 jours, au cours de ce stade une imprégnation oestrogénique importante de progestérone basale (autour de 0) avec une activité folliculaire accrue (Feldman & Nelson., 2004). 2 l'œstrus c'est la période où la chienne ovule et peut-être fécondée sa durée est de 5 à 9 jours (Feldman & Nelson., 2004). Sur le plan hormonal, on décrit un pic de la LH, hormone lutéinisante qui agit sur les ovaires et stimule l'ovulation, associé à une augmentation de la progestérone avant même l'ovulation qui est de 5 ng/ml au moment de l'ovulation et qui atteint 20 à 50 ng/ml voire plus après l'ovulation (Greer., 2014 ; Maillard *et al.*, 2014). Ensuite il y'a la phase de Dioestrus ou métoestrus caractérisée par la sécrétion de progestérone par le corps jaune il peut durer jusqu'à 2 mois (Feldman & Nelson., 2004). Dans le cas d'une gestation, il y a une régression des corps jaunes qui va entraîner une chute brutale de production de progestérone nécessaire au déclenchement de la mise bas. Dans le cas contraire la chute de progestérone ainsi que la régression des CJ sont plus lentes (80 j post-

ovulatoire) (Root.Kustritz., 2010 ; Maillard *et al.*, 2014). Le dernier stade est l'anoestrus provoqué par le phénomène de la lutéolyse qui dure environ 90 jours, Les niveaux de progestérone restent égaux ou inférieurs à 2ng/ml (Greer., 2014) et par un augmentation de la fréquence d'amplitude de la sécrétion de gonadotrophine (Root.Kustritz., 2010).

L'intervalle apparent entre deux périodes de chaleurs entre la fin de la phase lutéale (dioestrus) et le début de la phase folliculaire suivante (proestrus) est l'interœstrus (Feldman & Nelson., 2004). Sa durée moyenne est de 6-7 mois, avec des variations (4 à 13 mois) à la fois entre chiennes et entre chaleurs d'une même chienne. (Maillard *et al.*, 2014).

2.2. Chez la chatte

La chatte est connue comme étant une espèce saisonnièrement polyoestrals (parfois peut être non saisonnière). De plus l'ovulation est provoquée par fécondation mais il peut y avoir une ovulation sans fécondation dans ce cas-là on parle d'une pseudogestation. (Gillian *et al.*, 2014). La puberté est variable, les chaleurs peuvent se manifester à un âge précoce (4mois) ou à un âge assez tardif (18 mois), mais la puberté est plus liée au poids qu'à l'âge. La majorité des chattes acquièrent leur puberté entre 6 et 9 mois avec un poids corporel de 2.3 à 2.5 kg en général (Root.Kustritz., 2010 ; Gillian *et al.*, 2014). D'autre part l'hérédité joue un rôle dans la survenue de la puberté, les races à poils courts, Siamois et Birman semblent acquérir une puberté précoce par rapport aux races à poils longs comme la race Persan qui commencent leur 1er cycle à l'âge de 18 mois (Root.Kustritz., 2010 ; Gillian *et al.*, 2014).

Le cycle œstral chez la chatte diffère de celui de la chienne. Il comporte 5 stades au lieu de 4 et se compose du proestrus, de l'œstrus, du postœstrus, du dioestrus et de l'anoestrus, comme on peut le diviser en période de chaleurs (proestrus et œstrus) et période de non chaleurs (Root.Kustritz., 2010 ; Gillian *et al.*, 2014).

Le proestrus sa durée est d'environ 1-2 j. Durant cette phase la croissance folliculaire débute avec des concentrations plasmatiques d'œstradiol faibles et insuffisantes pour l'expression des chaleurs (Gillian *et al.*, 2014).

Cette phase est rarement observée, c'est pour cette raison que l'on considère le proestrus et l'œstrus comme période de chaleur (Root.Kustritz., 2010 ; Gillian *et al.*, 2014).

L'œstrus:

Il commence lorsque la femelle permet au mâles de la monter, la durée peut être de 2 à 19 j (Root.Kustritz., 2014). La chatte manifeste ses chaleurs par un changement de comportement: se frotte contre des objets, se roule parfois devient parfois extrêmement affectueuse, beaucoup de miaulements et adopte la posture de l'ordo. On peut également constater sur les organes

génitaux externes quelques signes qui peut être présentes : une petite rougeur, un ramollissement ou un œdème de la vulve et parfois un faible écoulement vulvaire transparent. L'apparition des chaleurs à ce stade est due aux follicules qui secrètent les œstrogènes en quantités assez suffisantes (Root.Kustritz., 2010 ; Gillian *et al.*, 2014).

Postoestrus:

La chatte ne présente aucun signe et sa durée est comme celle du proestrus. À ce stade, la chatte n'a pas ovulé, les follicules régressent et la quantité d'œstrogènes diminue (Root.Kustritz., 2010). En absence d'accouplement et/ou d'ovulation les chaleurs vont être observées tous les 10-14 j.

Entre deux périodes de cyclicité, se trouve l'interoestrus pendant lequel la chatte ne présente aucun signe clinique ou modification du comportement. Durant cet interoestrus l'ovaire commence à se préparer pour la croissance folliculaire suivante et donc l'œstrus suivant (Gillian *et al.*, 2014).

Le dioestrus :

C'est une phase où la chatte doit être gestante après ovulation et fécondation. Si c'est le cas il y a une augmentation de la progestérone produite par le corps jaune (Root.Kustritz., 2010).

L'anoestrus :

Il apparaît lorsque les jours sont naturellement courts (hiver) c'est une période de non chaleurs et de repos sexuel durant laquelle la chatte se comporte normalement (Gillian *et al.*, 2014 ; Root.Kustritz., 2010).

3. Moyen de défense de l'utérus contre les infections

Lors d'une infection bactérienne l'utérus est dotée de deux types de protection une mécanique et une immunitaire. Ces deux mécanismes sont très actifs au moment où l'imprégnation hormonale est importante, ceci est observé dans la période d'œstrus mais très peu présent lors des périodes de dioestrus expliquant que les infections utérines surviennent de façon assez fréquentes durant ces périodes (Bousquet., 2006).

La protection mécanique est maintenue par la contractilité du myomètre qui permet d'évacuer tous les germes présents au moment de l'ouverture du col lors du cycle. De plus la desquamation régulière de l'épithélium de l'utérus qui peut éliminer un certain nombre de bactéries ainsi que l'effet bactéricide et mécanique présent au niveau du bouchon cervical. D'autre part, la protection immunologique joue un rôle assez important dans le phénomène de la défense par des voies non spécifiques comme les cellules phagocytaires moyennes ou

spécifiques telle que les immunoglobulines A qui inhibe la fixation des bactéries à l'endomètre utérin et l'immunoglobuline G par son pouvoir bactéricide (Bousquet., 2006).

II. LE PYOMETRE

1. Définition et importance

Le pyomètre littéralement signifie « utérus rempli de pus » est une maladie reproductive courantes chez les chiennes et les chattes adultes non stérilisées, il est diagnostiqué généralement entre 4 semaines à 4 mois après l'œstrus c'est-à-dire durant le dioestrus.

La maladie se développe de façon rapide et entraîne un large éventail de signes cliniques pouvant entraîner une mortalité dans certains cas d'où l'importance d'établir un diagnostic précoce et d'instaurer une thérapeutique efficace en cas de suspicion de pyomètre (Hagman., 2018 ; Santana et Santos., 2021).



Figure 2. Un utérus d'une chienne atteinte de pyomètre (Hagman., 2018)

2. Facteurs favorisant du développement du pyomètre

2.1. L'âge

Le pyomètre se manifeste généralement durant le dioestrus chez la chienne et en période d'œstrus chez les chattes mais on parle surtout de la phase de dioestrus chez les deux espèces entre le printemps et le début de l'automne. En effet l'âge est un facteur important car ces animaux dans la plus part des cas sont pubères et âgées. On estime un âge moyen chez la chienne de 7 ans avec un intervalle de 4 mois à 18 ans, et chez la chatte de 5 à 7 ans (Hollinshead & Krekeler., 2016; Hagman., 2018).

2.2. La race

La race des chiennes et des chattes peut influencer sur l'apparition de cette maladie.

Chez les chiennes, il s'agit des races Golden Retriever, le Schnauzer nain, l'Irish Terrier, le Saint Bernard, l'Airedale Terrier, le Cavalier King Charles Spaniel, le Colley à poils ras ou encore le Bouvier Bernois, le Rottweiler, le Bullmastiff et le Dogue de Bordeaux (Smith., 2006 ; Santana et Santos., 2021).

Chez les chattes aucune prédisposition de race pour le pyomètre n'été décrite. Cependant, une étude rétrospective en Suède a montré que les chats de race orientale et Sphynx avaient une incidence plus élevée que les races suivantes : Sibérien, l'Ocicat, le Korat, le Siamois, le Ragdoll, le Maine Coon et le Bengal (Hollinshead & Krekeler., 2016).

2.3. Facteur hormonale

Le pyomètre se développe majoritairement à la faveur des fluctuations des hormones utérines qui sont présentes soit de façon endogène et sécrétées au cours du cycle, ou de façon exogène c'est-à-dire administrées pour un effet thérapeutique précis. Il a été démontré qu'une exposition répétée de l'endomètre à de fortes concentrations d'œstrogènes pendant le proestrus et l'œstrus, suivies de fortes concentrations de progestérone pendant la phase dioestrals rend l'utérus sensibles aux infections bactériennes. La progestérone joue un rôle important dans la stimulation de la sécrétion glandulaire de l'endomètre et supprime les contractions de l'utérus, créant ainsi un environnement intra-utérin prédisposé à la croissance bactérienne et au développement d'un pyomètre, les œstrogènes jouent un rôle moins important en favorisant les progestérones. Les concentrations élevées d'œstrogènes et de progestatifs résultant d'une administration exogène durant l'œstrus ou le dioestrus pour provoquer une gestation, peuvent agir de façon négative entraînant l'apparition de cette maladie (Feldman & Nelson., 2003; Hollinshead & Krekeler., 2016 ; Lesley & Boag., 2018).

2.4. Facteurs anatomiques

Les facteurs anatomiques sont liés à la race et l'espèce de l'animal. Ainsi, un utérus avec une taille et une longueur anormale ou inadéquate ne permettra pas une vidange complète de l'utérus entraînant par conséquent une accumulation des liquides durant le cycle sexuel, et qui devient un milieu favorable à la prolifération bactérienne (Bousquet., 2006).

3. Pathogénie

La pathogénie du pyomètre est encore mal comprise. Elle est considérée comme étant multifactorielle chez la chienne et chez la chatte. Cependant, il est communément admis que le pyomètre est due à l'association de nombreux facteurs hormonaux et bactériens (Hollinshead & Krekeler., 2016 ; Hagman., 2018).

Il est connu que cette maladie se manifeste durant le dioestrus où l'on note des imprégnations élevées de la progestérone, hormone jouant un rôle important dans la prolifération et la croissance des glandes endométriales, des mécanismes qui entraînent une hyperplasie endométriale glandulaire prédisposant dans certains cas à l'apparition du pyomètre or que les deux troubles peuvent se développer de façon indépendante. De plus, cette hormone stimule l'augmentation des sécrétions glandulaires et ce qui confère aux les bactéries un milieu favorable à leur multiplication, une fermeture cervicale, une suppression des contractions myométriales et une diminution de statue immunitaire (réponse locale des leucocytes locales) (Hagman., 2018 ; Liao *et al.*, 2020).

D'une part, la réponse de l'endomètre à la progestérone est marquée lorsqu'une imprégnation oestrogénique précède. Le plus souvent il s'agit d'oestrogènes exogènes injectés durant l'oestrus afin de prévenir une gestation et stimuler les récepteurs progésteroniques. Par conséquence durant l'oestrus il y a une ouverture du col permettent le passage des bactéries vers l'utérus qui est normalement capable de les élimines mais pas au moment de dioestrus (Hagman., 2018). En 2021 Santana et Santos ont noté la présence de la lactoferrine, une glycoprotéine antimicrobienne présente dans l'endomètre à des taux élevés pendant le proestrus et l'oestrus, et décrivent la présence de protéine (Muc1) à la surface de l'endomètre qui le protège contre les infections en empêchant l'adhésion bactérienne. Cependant, durant le dioestrus le taux de lactoferrine et de Muc-1 baisse et donc rend l'endomètre sensible aux infections bactériennes en favorisant l'adhérence bactérienne à l'épithélium endométrial et la colonisation de l'environnement utérin.

Parmi ces bactéries, on trouve *Escherichia coli*, bactérie à gram négative caractérisée par sa capacité d'adhérer à un récepteur spécifique dans l'endomètre, et en présence de progestérone, elle libère des endotoxines qui vont entraîner par la suite des chocs septiques.

On trouve également d'autres bactéries entéropathogènes telles que *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus*, d'autres anaérobies Gram- et Gram+. Ces dernières par le biais des composants de leur paroi cellulaire, tels que les peptidoglycanes, ont également la capacité d'induire la libération de cytokines inflammatoires provoquant ainsi des lésions nécrotiques et un choc toxique (Santanna., 2016). Parmi ces bactéries Gram +, une bactérie

peu spécifique c'est *l'Arcanobacterium pyogenes* souvent retrouvée dans les cas de pyomètre. Entre ces bactéries s'installe une synergie, les anaérobies produisent des substances leucotoxiques ou inhibitrices de la phagocytose tandis que *A. Pyogène* synthétise un facteur de croissance pour les anaérobies Gram- (Bousquet., 2006).

4. Signes cliniques

Les signes cliniques sont variables et dépendent du statut immunitaire, de la virulence des bactéries mais le plus important de la perméabilité du col, on parle d'un pyomètre à col ouvert ou à col fermé (Lioa *et al.*, 2016).

En cas de pyomètre à col ouvert, l'exsudat utérin purulent est drainé à travers le col de l'utérus vers l'extérieur, un écoulement vulvaire purulent voir parfois sanguinolent est observé et facilement identifiable associé à d'autres signes cliniques tels que l'anorexie, léthargie et une polyuriepolydipsie (chez les chiennes), de la tachycardie, une tachypnée, un pouls faible et une pâleur des muqueuses; on note de la fièvre, la déshydratation parfois, les douleurs abdominales à la palpation, et dans de rares cas un l'animale peut présenter des difficultés de déplacement et de la diarrhée. Chez la chatte on observe une distension abdominale, une déshydratation et une fièvre associée à de l'anorexie et de léthargie étant les manifestations les plus courantes (Smith., 2006 ; Hollinshead & Krekeler., 2016 ; Hagman., 2018).

Inversement, en cas d'un pyomètre à col fermé il n'y a pas d'écoulement vaginal évocateur, le col reste fermé et l'exsudat purulent est retenu dans l'utérus, ce qui augmente le risque de choc endotoxémique voire même la possibilité de rupture utérine avec une progression rapide de la dépression, de la polyurie, de la polydipsie, des vomissements et de la diarrhée. L'évolution peut être fatale si le diagnostic n'est pas posé en début d'évolution (Lesley & Boag., 2018 ; Santana & Santos., 2021).

En effet, que ce soit à col ouvert ou à col fermé les signes cliniques observés permettent seulement de suspecter un pyomètre d'où la nécessité d'effectuer d'autres examens complémentaires pour confirmer le diagnostic préétabli (Hagman., 2018).

5. Diagnostic

Le pyomètre est facile à reconnaître dans les cas classiques, mais peut être plus difficile lorsqu'il n'y a pas d'écoulement vaginal (col fermé) (Hagman., 2018).

Le diagnostic d'un pyomètre est basé sur l'anamnèse, l'historique de l'animal âge, race, antécédents médicamenteux comme les cas d'injections de progestérone pour prévenir

l'œstrus) ainsi que les signes cliniques, les résultats des tests biochimiques et hématologiques et la cytologie. Il existe d'autres méthodes plus précises qui permettent de confirmer sa présence telles que la radiographie et l'échographie, comme on peut aussi établir d'autres examens complémentaires post opératoires : l'histopathologie, macroscopique de l'utérus et des ovaires et l'examen microbiologique à partir d'un prélèvement effectué au niveau du contenu utérin (Hollinshead & Krekeler., 2016 ; Hagman., 2018).

En générale le diagnostic clinique est basé sur les informations provenant des propriétaires. Cependant, les propriétaires de ces animaux lorsqu'ils sont plus âgées, peuvent omettre de signaler l'absence d'activité œstrale récente en supposant que leur animal a subi une « ménopause » (Smith., 2006). D'autres critères peuvent être décrits tels que la présence d'un écoulement vulvaire purulent avec ou sans distension abdominale et dans de nombreux cas l'utérus est visiblement agrandi mais il faut faire très attention lors de la palpation abdominale car cela peut entraîner une rupture utérine si le col est fermé et que l'utérus est friable, d'autres signes plus courants peuvent se manifester comme la déshydratation, la fièvre, l'anorexie et la léthargie étant les manifestations les plus courantes (Hollinshead & Krekeler., 2016).

6. Approche thérapeutique

Historiquement, la chirurgie est la méthode habituelle et le traitement de choix dans la majorité des cas, mais en réalité le pyomètre peut être traité chirurgicalement ou médicalement et dans certains cas une combinaison des deux approches peut être la solution la plus efficace et la plus sûre (Smith., 2006 ; Hollinshead & Krekeler., 2016).

Le choix de l'approche thérapeutique dépend de l'âge et l'état général de l'animal, l'intérêt pour la reproduction, la gravité du pyomètre après un examen clinique et radiographique.

Le traitement médical est réservé en général aux animaux à haute valeur d'élevage, aux animaux âgés ou en mauvais état général chez lesquels l'anesthésie serait dangereuse.

D'autre part, le traitement médical peut être prescrit dans le cas où les propriétaires souhaitent réduire au minimum les coûts. Le but de cette approche peut être préventif contre une prolifération bactérienne et l'action des endotoxines ou de supprimer l'effet de la progestérone administrée (voie exogène) il permet à la fois l'ouverture du col et donc le drainage du matériel purulent de l'utérus et des bactéries aidé par l'induction des contractions myométriales, et l'amélioration du statut immunitaire (Fieni *et al.*, 2014 ; Hollinshead & Krekeler., 2016 ; Lesley & Boag., 2018).

Avant la prescription du traitement médical, il est nécessaire d'exclure toute affection concomitante, une péritonite, un syndrome pyrétiqes, une maladie rénale, une hépatite

réactive ou une coagulation intravasculaire disséminée, d'où l'importance d'établir un examen clinique complet et une échographie complète, et d'effectuer des analyses hématologiques et biochimiques complémentaires (Fieni *et al.*, 2014; Hollinshead & Krekeler., 2016).

La prise en charge médicale est basée sur l'utilisation des prostaglandines (PGF2 α), des antagonistes dopaminergiques et des antagonistes des récepteurs de la progestérone ou des anti-progestatifs.

III. LES ANTIBIOTIQUES

1. Définition

Un antibiotique est une substance naturelle, synthétique ou semi-synthétique qui à très faible concentration tue ou inhibe la croissance bactérienne par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Les antibiotiques sont des molécules non actives contre les virus. Ils n'accélèrent pas la guérison et ne protègent nullement contre l'infection virale (Waksman., 1944 ; Turpin et Velu., 1957).

2. Classification des antibiotiques

D'après leur structure chimique souvent complexe et de nature très variée, Berdy et al. (1987, 2005) proposent un système de classification ouvert à tous les antibiotiques. Ce système les répartit dans neuf grandes familles chimiques et il est le plus utilisé en recherche fondamentale.

Il est à noter que ce type de classification met à l'écart tout intérêt thérapeutique et clinique, c'est pour cela qu'il existe aussi d'autres variantes de classer les antibiotiques.

Autres types de classification

Dans le domaine pharmaceutique et médical où la classification chimique importe peu; d'autres types de classifications sont utilisés. Les composés bioactifs peuvent être classés en fonction de leur spectre d'action, de leur type d'action, de leur mode d'action, de leur origine ou encore de leur charge électrique :

Selon leur spectre d'action, les antibiotiques peuvent avoir un spectre large, moyen, ou très étroit

Selon leur type d'action, les antibiotiques peuvent être bactéricides ou fongicides comme ils peuvent être bactériostatiques ou fongistatiques.

Selon leur mode d'action, les antibiotiques sont classés selon la cible moléculaire sur laquelle ils se fixent.

Selon leur origine, les antibiotiques peuvent être élaborés par divers organismes vivants. Ils peuvent être d'origine fongique (ex: pénicillines), bactérienne (ex: bacitracine) ou encore végétale.

Selon leur charge électrique, les antibiotiques peuvent être à caractère acide (ex: pénicilline), basique (ex: aminosides) ou neutre (ex: nogalamycines, mutactimycines) (Berdy *et al.*, 1987, 2005; Lamari, 2006).

3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui stoppent la prolifération bactérienne en inhibant une étape primordiale de leur développement. Selon sa nature, l'antibiotique bloque la synthèse de la paroi bactérienne, de leur acides nucléique, de leur protéines,.... Entravant ainsi leur survie et leur cycle de reproduction.

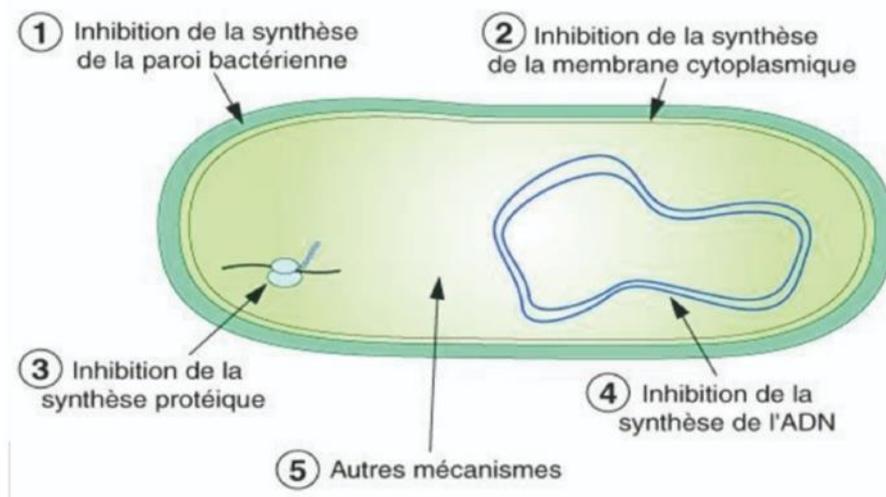


Figure 3: les différents modes d'action des antibiotiques (<http://www.devsante.org>)

3.1. Action sur la synthèse de la paroi bactérienne

Les bactéries et les fungi disposent d'une paroi protectrice. L'élément essentiel qui la caractérise chez les bactéries est la paroi, appelé aussi peptidoglycane, qui est un polymère complexe constitué de sucres aminés et tetrapeptides reliés par différents types de liaison chimiques. Chez les fungi, la constitution de la paroi est différente. Elle est riche en chitine, en glucanes et d'autres polysides selon les espèces, tels que les chitosanes chez les Mucorales et les mannanes chez les levures (Leyral et Vierling, 2007; Lansing *et al.*, 2010). Les antibiotiques qui agissent sur la paroi, entravent le déroulement normal de sa synthèse et

exposent ainsi le microorganisme aux différents facteurs de stress externes, notamment la pression osmotique qui conduit à la lyse cellulaire (Lansing *et al.*, 2010).

Les antibiotiques antibactériens (β -lactamines, cycloserine, fosfomycine et glycopeptides) agissent sur la synthèse pariétale empêchant l'insertion des acides aminés formant le tétrapeptide muréique ou en empêchant l'insertion de ce dernier au niveau de la muréine (Asselineau et Zalta, 1973).

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse pariétale fongique (ex.: échinocandines) bloquent la synthèse des glucanes pariétaux, essentiels à la paroi cellulaire fongique, entraînant ainsi un déséquilibre osmotique puis la lyse de la cellule fongique (Asselineau et Zalta, 1973; Carle, 2003).

3.2. Action sur la membrane plasmique

La membrane cellulaire représente une entité primordiale et vitale chez tout microorganisme. Elle est constituée d'une double couche phospholipidique et de protéines qui lui sont associées (Figure 4).

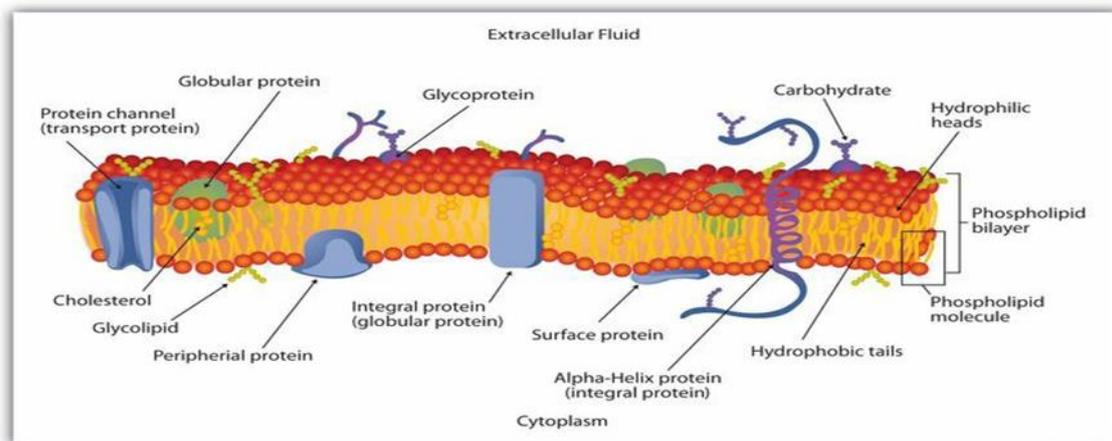


Figure 4. La structure fondamentale de la membrane plasmique (<https://pin.it/3QBXU7r> biologywitsaxe)

La membrane cytoplasmique est une barrière sélective permettant de maintenir les métabolites et les ions à l'intérieur du microorganisme. Elle est aussi impliquée dans la stabilisation du gradient de protons qui permet l'emmagasinement de l'énergie cellulaire (Prescott *et al.*, 2002). Certains antibiotiques visent à rompre cette membrane provoquant la dispersion de l'énergie chimio-osmotique et la fuite du contenu cytoplasmique au milieu extracellulaire rendant toute survie bactérienne impossible.

Ces antibiotiques peuvent être antibactériens (ex: polymyxines) ou antifongiques (ex.: amphotéricine B et nystatine). Ces derniers, agissent sur les stérols de la membrane plasmique

eucaryote, nécessaires à l'intégrité de la membrane cellulaire, conduisant ainsi à la formation de pores provoquant une augmentation de la perméabilité avec perte du contenu cytoplasmique puis la mort de la cellule fongique (Carle, 2003; Sylvie et Pharm 2003; Hulin *et al* 2005).

Les polymyxines pénètrent les membranes bactériennes grâce à leur caractère amphiphile et s'incorporent aux couches lipidiques par l'intermédiaire de leur extrémité hydrophobe (acide gras) alors que l'extrémité hydrophile reste à l'extérieur. Cette action a pour effet la désorganisation membranaire et la mort cellulaire (Prescott *et al*, 2002).

3.3. Action sur les acides nucléiques

Les acides désoxyribonucléiques (ADN) constituent le support d'information génétique. L'acide ribonucléique (ARN) intervient essentiellement comme support intermédiaire des gènes lors de la synthèse protéique. Cela montre l'importance vitale des acides nucléiques (ADN et ARN) pour toute entité biologique vivante.

Les antibiotiques qui ont une action sur la synthèse des acides nucléiques ciblent l'une des étapes majeures (la synthèse d'ADN et sa réplication, la transcription d'ADN en ARN). Parmi ces antibiotiques, les quinolones et fluoroquinolones qui agissent en se liant au complexe ADN-ADN gyrase bactérienne, ce qui a pour effet d'inhiber la gyrase (indispensable à l'ouverture de la double hélice). Ceci inhibe la réplication de l'ADN, donc la division bactérienne. La mitomycine et l'acide nalidixique empêchent respectivement la réplication de l'ADN (en se fixant sur les deux brins d'ADN) et sa synthèse (par inhibition de l'incorporation de la thymine). L'actinomycine empêche la transcription de l'ADN en ARN messenger (Asselineau et Zalta, 1973; Prescott *et al*, 2002; Lansing *et al.*, 2010).

3.4. Inhibition de la synthèse des protéines

La synthèse protéique constitue également une étape vitale pour les cellules microbiennes. L'ARN messenger est traduit en protéines (protéines structurales, enzymatiques, de transport) au niveau des ribosomes.

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique agissant sur les ribosomes, comme c'est le cas des macrolides, des tétracyclines et du chloramphenicol. Au niveau du ribosome, ces peuvent empêcher la fixation de l'ARN de transfert porteur d'acides aminés, la translocation et la transpeptidation. D'autres antibiotiques (ex. streptomycine) provoquent des erreurs de lecture du code génétique (Asselineau et Zalta, 1973). Le ribosome est un très gros assemblage de plusieurs protéines et d'ARN ribosomiaux (ARN), composé de deux sous-

unités; une grande et une petite. Ces deux sous-unités s'assemblent et forment, à leur interface, une « tête de lecture » capable de décoder l'ARN messager (Figure 05). Certains antibiotiques agissent sur la petite sous-unité (30S) ribosomale (ex : aminosides, cyclines et glycylylines) et d'autres sur la grande sous-unité ribosomale (50S) comme les macrolides, les oxazolidinones, les acides fusidiques et les phénicolés.

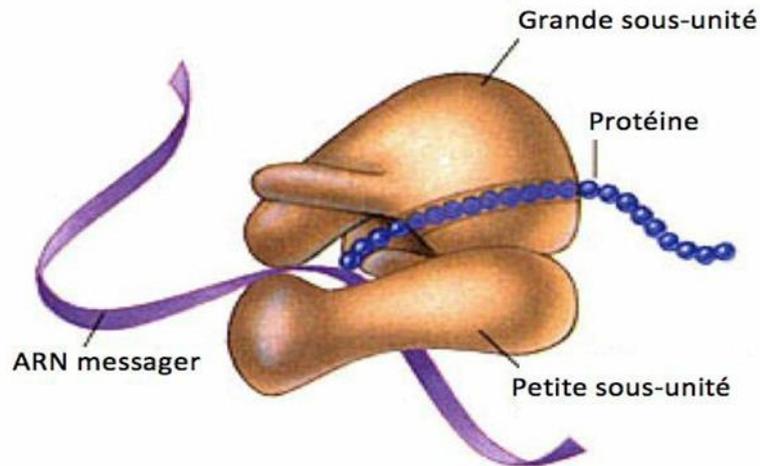


Figure5. Structure du ribosome (<https://pin.it/5P22qqy> biofaculté)

Les antibiotiques comme les tétracyclines, les macrolides et le chloramphénicol inhibent les synthèses protéiques en agissant sur les ribosomes en empêchant la fixation de l'ARN de transfert porteur d'acides aminés, la translocation et la transpeptidation. Il existe d'autres antibiotiques qui provoquent des erreurs de lecture du code génétique (ex. streptomycine) (Asselineau et Zalta., 1973).

4. La résistance bactérienne aux antibiotiques

4.1. L'antibiorésistance

La résistance des bactéries aux antibiotiques est apparue très peu de temps après le début de l'usage de ces derniers. Le premier cas de résistance à la pénicilline a été enregistré sur des souches de staphylocoques (Mary Barber, 1946). De nombreuses publications font l'état de la constante évolution des phénomènes d'antibiorésistance. Les grands progrès enregistrés par la microbiologie, notamment en ce qui concerne la «morphologie» et le «métabolisme » bactériens ont permis de comprendre les mécanismes de cette résistance.

4.2. Les types de résistance

4.2.1. Résistance naturelle (intrinsèque)

La résistance d'une espèce ou d'un genre bactérien donné qui ont la capacité de résister à un antibiotique. Le support de cette résistance est chromosomique (Lansing *et al.*, 2010).

4.2.2. Résistance acquise :

C'est la capacité d'une souche bactérienne à résister à une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce bactérienne (Schwarz et Chaslus., 2001). C'est une propriété de souche, cette résistance peut être acquise soit par mutation chromosomique, soit par acquisition de matériel génétique exogène (Yala *et al.*, 2001 ; Barrial *et al.*, 2005 ; Lansin *et al.*, 2010).

4.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique

Ce phénomène rare est mis en cause dans une toute petite partie des résistances rencontrées en clinique. Dans la plupart des cas l'augmentation de la résistance se fait progressivement par plusieurs mutations chromosomiques successives (Demerec, 1948). Cependant, il est possible qu'une seule mutation chromosomique puisse induire une augmentation très importante de l'antibiorésistance. La diffusion de ce type de résistance est étroitement liée à la diffusion dans la nature de la souche bactérienne mutante.

4.2.2.2. Résistance par acquisition de matériel génétique exogène

Contrairement à la mutation chromosomique où l'on a une augmentation par paliers de la résistance, l'acquisition de matériel génétique exogène permet l'apparition d'une augmentation brusque de la résistance. Cette acquisition de nouveaux gènes se fait par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons par trois mécanismes : la conjugaison, la transformation et la transduction.

La conjugaison peut s'effectuer entre deux bactéries de même espèce ou bien entre deux bactéries d'espèces différentes mais compatibles. Elle a pour principe, le transfert d'une copie du plasmide porteur des gènes de résistance par l'intermédiaire des pili sexuels (Lederberg, 1946)

La transformation est un autre phénomène qui a généralement lieu entre bactéries de genres proches pour permettre la recombinaison. Il a pour principe l'obtention de nouveaux gènes de résistance par le réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries (Griffith, 1928).

Enfin, la transduction se fait par la transmission de séquences d'ADN entre différentes bactéries et ce par l'intermédiaire d'un virus "bactériophage". Ce mécanisme n'a lieu que pour des bactéries de la même souche vue la spécificité des bactériophages (Lwoff, 1950,).

4.3. Mécanisme de résistance

Pour survivre, la bactérie tente d'échapper à l'action des antibiotiques par différentes stratégies, ces dernières peuvent être classées en deux types principaux : des mécanismes non enzymatiques (intrinsèques) et des mécanismes enzymatiques.

4.3.1 Mécanismes enzymatiques

Ces mécanismes consistent à synthétiser des enzymes qui ont le pouvoir de réduire ou carrément inactiver l'antibiotique. Parmi ces enzymes, celles inactivant les aminosides, les phénicolés et les β -lactamines (Cavallo *et al.*, 2004).

4.3.1.1. Les enzymes inactivant les phénicolés

La production d'un chloramphénicol acetyltransferase plasmidique est souvent la cause de la résistance au chloramphénicol. Cette substance est détectée chez certaines espèces d'entérobactéries telles que *Salmonella typhi* et *Pseudomonas* et *Yersinia* (Cavallo *et al.*, 2004). Mais il peut exister aussi, une résistance au chloramphénicol par le biais d'une nitroreductase (Smith et Erwin, 2007).

4.3.1.2. Les enzymes inactivant les aminosides

Ces enzymes sont classées en trois catégories d'après la réaction produite: aminoside acetyltransferases, aminoside adenyltransferases et aminoside phosphotransferases; seules ces dernières confèrent un haut niveau de résistance (Cavallo *et al.*, 2004).

4.3.1.3. Les enzymes inactivant les Béta-lactamines

Plusieurs bactéries de la famille des Enterobacteriaceae telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica* produisent des enzymes inactivant les antibiotiques. Ces bactéries présentent une résistance naturelle aux aminopénicillines (Ampicilline-Amoxicilline) et aux carboxypénicillines, due à une pénicillinase constitutive, c.à.d. produite constamment et indépendamment de la présence de l'antibiotique (Cattoir, 2004).

4.3.2. Mécanismes non enzymatiques

Parmi les mécanismes non enzymatiques qu'utilise la bactérie pour sa survie : l'imperméabilité, la modification de la cible d'antibiotique, les systèmes d'efflux et la

4.3.2.1. L'imperméabilité « Résistance par diminution de la pénétration d'un antibiotique »

L'existence de l'enveloppe hydrophobe chez les bactéries permet une résistance naturelle à plusieurs antibiotiques hydrophiles cela est dû au composant lipo-polysaccharidique (LPS) présent sur les enveloppes des bactéries à Gram négatif (Cavallo *et al.*, 2004). Des mutations peuvent entraîner des modifications quantitatives ou qualitatives de l'expression des porines. Ces dernières sont des protéines possédant des canaux centraux qui permettent le passage de molécules hydrophiles de petite taille comme les β -lactamines, les aminosides et les phénicolés. Leur inactivation ou la diminution de leur nombre est responsable de la résistance acquise à plusieurs familles d'antibiotiques par diminution de la diffusion des antibiotiques (Carvallo *et al.*, 2004).

4.3.2.2. Système d'efflux « Résistance par augmentation de l'excrétion des antibiotiques »

Ce mécanisme est actif chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Il consiste à l'expulsion des antibiotiques hors de la cellule bactérienne, mais il existe surtout chez les bactéries n'ayant pas un système de dégradation intracellulaire, possédant des protéines membranaires qui induisent une augmentation de l'excrétion de l'agent antibactérien et par conséquence l'augmentation de la résistance à ce dernier (Cavallo *et al.* 2004).

4.3.2.3. Résistance par absence de site d'action

C'est une résistance naturelle par absence du site d'action. Par exemple, Les bactéries résistent naturellement aux antifongiques par absence de stérols et les champignons résistent aux pénicillines par absence de peptidoglycane.

4.3.2.4. Altération des cibles d'antibiotiques

Si la cible est modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse pas s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui s'étend souvent à toute la famille de l'antibiotique à cause d'une moindre affinité (Fauchère et Avril, 2002; Cavallo *et al.*, 2004).

Le ribosome est le siège de la synthèse protéique et en même temps le site de fixation de quelques antibiotiques provoquant l'arrêt de la synthèse protéique. La modification acquise de celui-ci par mutation, diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante (Fanchère et Avril, 2002).

DEUXIEME PARTIE : ETUDE PRATIQUE

I. Matériel et méthode

1. L'objectif de l'étude

Le pyomètre est une maladie dont les causes sont multiples, la présence de certaines bactéries peut entraîner le développement de ce dernier. Cette étude est réalisée dans le but d'identifier ces bactéries qui peuvent participer dans le mécanisme de développement du pyomètre ainsi que d'évaluer le profil de résistance et de sensibilités aux différents antibiotiques qui sont généralement utilisées dans le cadre thérapeutique.

2. Échantillon et méthode de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués sur des chattes et des chiennes provenant du service de Chirurgie et du service de la médecine Canine à l'ENSV et certains cabinets vétérinaires à Bab Ezzouar, les examens et les analyses bactériologiques sont au niveau de laboratoire de Microbiologie de l'école.

Il est important de s'assurer que les prélèvements sont effectués dans des conditions aseptiques à l'aide d'écouvillons stériles au niveau de la membrane pyogène des cornes utérines afin de prélever le maximum des bactéries. Les écouvillons sont conservés à -4°C jusqu'à analyse, Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche d'enquête (annexe 1).

3. Enrichissement et isolement des souches bactériennes

3.1. Pré-enrichissement des cultures :

Les écouvillons sont ensemencés dans un tube d'enrichissement de façon stérile (figure 6), ce tube contient du bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (Annexe 2). Les tubes sont identifiés puis incubés dans l'étuve à 37°C pendant 18h à 24h (Le Minor et Veron., 1982 ; Pilet *et al.*, 1983).

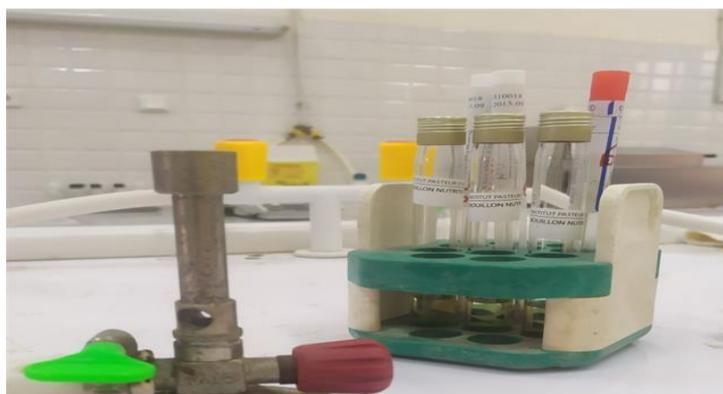


Figure 6 : Ecouvillons ensemencés dans des bouillons nutritifs BHIB

3.2. Isolement des souches bactériennes :

Afin d'établir un diagnostic bactériologique précis, la mise en culture est indispensable surtout si les prélèvements proviennent d'une cavité ouverte et qui contient plusieurs espèces bactériennes, rajoutant que c'est à partir de ces cultures que les divers caractères biochimiques peuvent être révélés et qui vont permettre par la suite l'identification de ces bactéries (Boussena., 2020).

Dans cette étude on a choisi deux milieux pour l'isolement, un milieu non sélectif (gélose nutritive) et le milieu Chapman (Annexe 3) pour l'isolement et l'identification des bactéries Gram +

Technique :

On prend de façon stérile un inoculum d'une suspension bactérienne à l'aide d'une anse en palatine, ensuite cet inoculum est ensemencé sur une gélose nutritive (milieu d'isolement non sélectif) (Figure 7), puis incubés à l'étuve à 37° C durant 24h (Bent Mohamed et Mint Sidi baba., 2008). On utilise la même technique pour le milieu Chapman (Figure 8).



Figure 7 : préparation pour l'ensemencement Sur gélose nutritive.

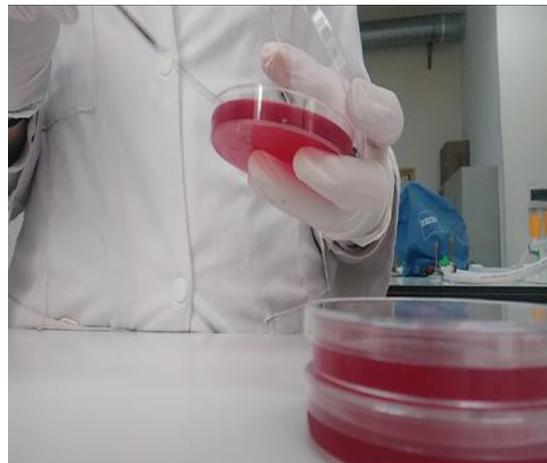


Figure 8 : ensemencement sur Chapman

Les cultures bactériennes sont purifiées 24h après, la sélection est basée sur l'aspect macroscopique des colonies : la couleur, la forme, le diamètre, l'aspect... (Boussena., 2020).

4. Identification des souches bactériennes

4.1. Tests d'orientations

4.1.1. Coloration de Gram

En microbiologie, il existe plusieurs techniques de coloration celle de Gram représente la coloration de base, elle a été décrite en 1884 par le médecin danois Hans Christian Gram.

Grace à cette technique on a pu classer les bactéries en deux grands groupes les Gram positives et les Gram négatives selon les propriétés de leur paroi, on générale cette paroi est présente chez toutes les bactéries connues comme étant un élément rigide composé de sucres et de différents types d'acides aminés, appelée le peptidoglycane de plus chez les bactéries Gram négatives on trouve une membrane externe contenant de protéines, lipides et polysaccharides, cette dernière n'est pas présente chez les bactéries Gram positives ce qui permet à ces bactéries d'être colorés en violet alors que les Gram – sont colorés en rose (Assis *et al.*, 2019).

La coloration de Gram permet d'identifier le groupe des bactéries macroscopiquement par la couleur et microscopiquement par leur forme, taille et leur regroupement cellulaires (Lansing *et al.*, 2010 ; François., 2011).

Techniques :

Un frottis est préparé à partir d'une suspension bactérienne qui doit être étalée sur une lame puis fixée à l'aide d'une flamme puis colorée selon les étapes suivantes :

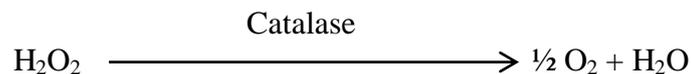
- Coloration au Violet de gentiane pendant une minute.
- Le Lugol pendant une minute.
- Rinçage a l'eau.
- Alcool à 95% environ 30 secondes à 1 minute.
- Rinçage à l'eau.
- Coloration à la Fushine une minute.
- sécher entre deux feuilles de papier filtre.

Observation sous immersion au microscope optique (grossissement x 100) (Lansing *et al.*, 2010 ; François., 2011).

4.2. Tests biochimiques :

4.2.1. Recherche de la catalase :

Il existe certaines bactéries qui ont la capacité de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la présence de la catalase, enzyme présente chez la majorité des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives, sa fonction est de prévenir l'accumulation de peroxyde d'hydrogène à des niveaux toxiques en catalysant la conversion du H₂O₂ en eau et en oxygène selon la formule suivante (François., 2011; Meziani., 2012 ; François *et al.*, 2016) :



Technique :

Prélever une colonie à l'aide d'une anse de palatine et l' déposer sur une lame puis on ajoute une goutte d'eau d'oxygène on utilise une pipette pasteur.

Le dégagement de bulles de gaz confirme la présence de l'enzyme.

4.2.2. Recherche de l'oxydase :

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme d'oxydo- réduction permet d'identifier surtout celle à bacilles Gram –

Les bactéries qui ont ce cytochrome sont dotées généralement d'une chaîne respiratoire complète lui permettent d'oxyder le N, N, N, N tétraméthyl 1,4 phénylène diamine, composant réactif de la recherche de cette enzyme il donne un complexe de couleur violette une fois il rentre en contact avec ce dernier (François., 2011 ; Meziani., 2012 ; François *et al.*, 2016).

Technique :

À partir d'une suspension bactérienne on prend 2ml dans un tube stérile à l'aide d'une pipette pasteur ou bien une seringue puis on dépose un disque d'oxydase, celui-ci contient de l'oxalate de diméthyl paraphénylène diamine. Sur les tubes on note une coloration violette foncée résulte que ces bactéries sont des bactéries oxydase-positives (Boussena., 2020).

4.2.3. Catabolisme des glucides

La plupart des bactéries utilisent les glucides comme source d'énergie dans leur métabolisme cela sous deux voies :

- Voie oxydative : en présence d'oxygène les bactéries dégradent les glucides et produisent peu de catabolites acides.
- Voie fermentative : en absence d'oxygène, les bactéries vont utiliser les sucres avec production des catabolites acides entraînent une diminution du PH du milieu.

Afin de déterminer la voie de dégradation utilisée par ces bactéries, on a choisi le milieu TSI dans cette étude.

Le milieu TSI

C'est un milieu proposé par Hajna (1945), contenant du glucose, du lactose, du thiosulfate et des ions ferreux (Meziani., 2012). Il est utilisé essentiellement pour l'identification des entérobactéries, en permettant la recherche des différents caractères biochimiques : l'utilisation du glucose/lactose ou saccharose, la production du H₂S, du gaz par la fermentation du glucose et la recherche de la B-galactosidase, ce milieu coulé en tube avec pente et culot, l'indicateur du PH est le rouge de phénol (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

✓ Le culot :

Conditionné par la présence du glucose et l'absence d'oxygène, le glucose entraîne l'inhibition de la synthèse des enzymes responsables de la dégradation du lactose (B-galactoside perméase et B-galactosidase) c'est l'effet glucose (Meziani., 2012). Cela explique le fait que les bactéries le glucose comme une source première d'énergie puis le lactose or que la quantité du ce dernier est 10 fois plus que celle du glucose dans ce milieu (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

Pour la lecture si l'indicateur du PH change de couleur et devenu jaune cela explique que les bactéries fermentent complètement le glucose, si le culot reste rouge c'est que ces bactéries n'arrivent pas à fermenter le glucose (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

L'utilisation du lactose ne modifiera pas la couleur, donc on lit le caractère glucose dans le culot (Boussena., 2020).

✓ La pente :

Au début il y'a l'effet glucose par voie oxydative d'où production faible d'acides puis cet effet disparu et selon la bactérie on note :

Des bactéries dites lactose (+) : possèdent les deux enzymes nécessaires pour la dégradation du lactose et produisent d'acide, macroscopiquement la couleur devienne jaune.

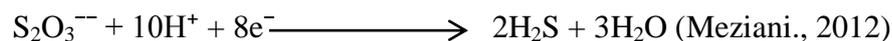
Des bactéries dites lactose (-) : n'ont pas d'enzymes et donc ne dégradent pas le lactose, mais elles utilisent les peptones comme une source d'énergie aboutissent par la suite à la libération des produits basiques exemple : ammoniac d'où une recoloration rouge de la pente (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

✓ Production de gaz :

La production du gaz se traduit par formation de bulles au niveau du culot ou bien par une poche qui se forme entraînant le décollement du milieu du fond du tube (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

✓ Production de H₂S :

Cette réaction est conditionnée par la présence du thiosulfate de sodium et citrate ferrique (Fe³⁺), les ions du thiosulfate se réduit en H₂S en anaérobiose (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020) selon la formule suivante :



H₂S formé se combine au citrate de fer est forme un précipité de sulfure de fer noir, les bactéries qui présente ce précipité est dite H₂S+ (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

4.2.4. Mannitol mobilité

Ce test permet d'identifier à la fois la fermentation du Mannitol (caractère biochimique) et la mobilité des bactéries (caractère morphologique).

Le mannitol est un dérivé de réduction du mannose avec production d'acides la lecture de l'utilisation du mannitol par ces bactéries est possible grâce à l'indicateur du pH (le rouge de phénol) du rouge en milieu basique au jaune en milieu acide (acidification du milieu), dans ce cas on dit que la bactérie est mannitol + (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

La mobilité est déterminée par une répartition des colonies sous forme d'un trouble envahissant toute la largeur de la gélose de part et d'autres de la piqûre centrale, sinon si la bactérie est immobile on observe des colonies au lieu de l'ensemencement (François., 2011 ; Meziani., 2012).

Technique :

Le milieu est ensemencé à l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur à bout fermée sous forme de piqure centrale puis on incube les tubes à 37°C pendant 18-24 heures (Boussena., 2020).

4.2.5. Milieu Clark et Lubs (RM-VP)

Ce milieu permet la recherche des voies de fermentation des acides mixtes et du butanediolique chez les entérobactères (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

✓ Le teste du rouge de méthyle (RM) :

Il met en évidence la fermentation du glucose en acides mixtes et la production de l'acide pyruvique, puis des acides organiques, ces acides vont changer la couleur du RM au rouge et dans le cas contraire le RM virer en jaune (Boussena., 2020).

✓ Le teste de Voges-Proskauer (VP) :

Ce teste mis en évidence au cours de la fermentation du butylène glycolique la production d'acétoïne (3 – hydroxybutanone) (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020). Cet acétoïne donne une coloration rouge lorsque le milieu est très oxygéné (Boussena., 2020).

Technique :

Ce teste nécessite un ensemencement de deux tube de milieu Clark et Lubs dans lequel on rajout quelque gouttes d'une suspension bactérienne et on les met à l'incubateur à 37°C durant 24h à 48h, puis on ajoute dans le premier tube une goutte de RM et dans le deuxième tube on ajoute une goutte de chaque réactif VP1 et VP2 espacé d'un intervalle de 10 minutes.

4.2.6. Urée – Indole

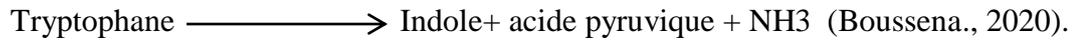
L'urée-indo est un milieu de culture qui permet l'identification de plusieurs germes notamment les entérobactéries par la réalisation de 3 test en même temps (test d'uréase, test indole et le test TDA) (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020).

✓ Test d'uréase :

L'uréase est une enzyme présente chez certaines bactéries dite uréolytiques permettent la catabolisation de l'urée en carbonate d'ammonium entrainant par la suite l'alcalinisation du milieu et le changement du couleur du l'indicateur de PH du jaune au rouge en milieu basique (Meziani., 2012).

✓ Test indole :

L'indole est mise en évidence par le milieu urée-indole, où les bactéries vont dégrader le tryptophane en indole, acide pyruvique et l'ammoniac grâce à l'enzyme tryptophanase (Meziani., 2012).



✓ Test TDA :

Le tryptophane, cet acide aminé peut être dégradé par une autre enzyme appelée tryptophane-désaminase (TDA) conduisant à la production de l'ammoniac et l'acide indole 3-pyruvique (Meziani., 2012).

Technique

On prend une colonie de la souche à étudier à l'aide d'une anse palatine et on la dépose dans le tube contenant de l'urée-indole et incubée par la suite 24-48h à 37°C (Boussena., 2020).

La présence de urée est révélée par le changement de couleur de PH du jaune au rouge pour les bactéries uréase (+) et reste jaune pour les bactéries uréase (-) (Meziani., 2012).

Pour révéler la présence de l'indole on utilise le réactif de Kovacs, « si l'espèce bactérienne est indole (+), un anneau rouge apparaît à la surface du milieu ; si au contraire elle est indole (-), il y a un anneau jaune ou le milieu demeure inchangé » (Boussena., 2020).

Le TDA est révéler par une coloration brune en présence de perchlorure de fer (Meziani., 2012).

4.2.7. Citrate de Simon

C'est un milieu où certaines entérobactéries sont capables de cataboliser le citrate de sodium par le biais d'une enzyme citratase et l'utilisée comme source de carbone et d'énergie. Notant que le citrate est la seule source de carbone présente dans le milieu, son utilisation s'effectue dans des conditions d'aérobies entraînant l'alcalinisation du milieu (Meziani., 2012 ; Boussena., 2020). Selon l'équation suivante d'oxydation de citrate par la respiration aérobie :



Technique:

Le milieu se présente sous forme de gélose inclinée dans des tubes, la pente estensemencée par une strie longitudinale réalisée à l'aide d'une anse de palatine à partir d'une suspension de la culture solide ensuite les tubes sont incubées dans l'étuve 24h à 37C° (Boussena., 2020).

La lecture est basée sur le changement de couleur du PH :

Un indicateur de pH au bleu explique qu'il y a eu une alcalinisation du milieu donc la souche est citrate (+)

Pas de changement de l'indicateur de pH veut dire qu'il n'y a pas eu alcalinisation donc la souche est citrate (-)

Un inoculum portant une source de carbone ou des fois le bouchon mal dévissé, peuvent faussées les résultats (Boussena., 2020).

4.2.8. ONPG

Le test ONPG est un test complémentaire permet de trouver s'il y a présence d'une B-galactosidase que l'on reconnaît grâce à la coloration en jaune du milieu. Pour que la bactérie hydrolyse le lactose, il faut qu'elle ait deux enzymes La B-galactoside et La B-galactosidase (Méziani., 2012).

Technique :

À partir d'une suspension bactérienne on met un disque d'ONPG et on attendre le changement de couleur.

5. Antibiogramme

L'antibiogramme est défini comme étant un test réaliser *in vitro* afin d'évaluer la sensibilité des bactéries à un ou plusieurs antibiotiques (Boussena., 2020). Ces antibiotiques sont connus en quantités et leur sélection est en fonction du spectre naturel d'activité des bactéries et la localisation du foyer infecté (Assis *et al.*, 2019).

Il existe deux méthodes pour l'antibiogramme, dans cette étude on a utilisé la méthode de diffusimétrique (diffusion par disque).

Technique :

Une suspension bactérienne est réalisée en vortexant mélangent dans un tube contenant 4 ml d'eau physiologique 3 à 4 colonies bactériennes, une dilution au 1/10 est réalisé (9ml d'eau physiologique + 1 ml de la suspension préparée).

Ensuite à l'aide d'une pipette on prend 4 ml de la solution mère est on la dépose sur la gélose Muller Hinton (annexe 4), on retire l'excès de la solution puis on dépose les disques d'antibiogramme sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince.

On teste 6 disques par boites, puis on les incube à 37C° durant 18 h à 24h (Boussena., 2020).

La lecture est réalisée en mesurant la zones d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse, les valeurs obtenues sont comparées aux valeurs critiques (Boussena., 2020).

II. Résultat et interprétation

1. Prélèvement

Les échantillons analysés reçus, sont prélevés des chattes et chiennes d'âge et de race différentes.

Le tableau ci-dessus illustre les informations concernant : âge, race, la forme du pyomètre et la nature du prélèvement.

Nombre de prélèvements	Espèce	Age	Race	La forme du pyomètre	Nature du prélèvement
01	Chatte	1 an	Européenne	Ouvert	Membrane pyogène
02	Chatte	10 mois	Européenne	Ouvert	Membrane pyogène
03	Chatte	1an	Siamois	Fermé	Membrane pyogène
04	Chatte	1an	Européenne	Fermé	A l'intérieure de pus
05	Chatte	4 ans	Siamois	Ouvert	A l'intérieure de pus
06	Chienne	7 mois	American Staffordshire Terrier	Ouvert	Membrane pyogène
07	Chienne	6mois	pitbull	Fermé	Membrane pyogène
08	Chatte	1 ans et demi	Européenne	Ouvert	Membrane pyogène
09	Chatte	2 ans	Européenne	Ouvert	Membrane pyogène

Tableau 01 : Tableau illustre les informations des animaux atteints du pyomètre et la nature du prélèvement.

2. Pré-enrichissement

Après 24h d'incubation dans le milieu de pré-enrichissant BHIB, on note un aspect trouble témoignant d'une croissance bactérienne.

3. Analyse bactériologique

3.1. Coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram sont observés sous microscopie optique (figure 9) des bactéries sont observées sous forme de coque, diplocoques isolées ou regroupés en chaînette, ces bactéries se présentent de couleur rose et violet ce qui explique la présence des deux groupes les Gram+ et les Gram –

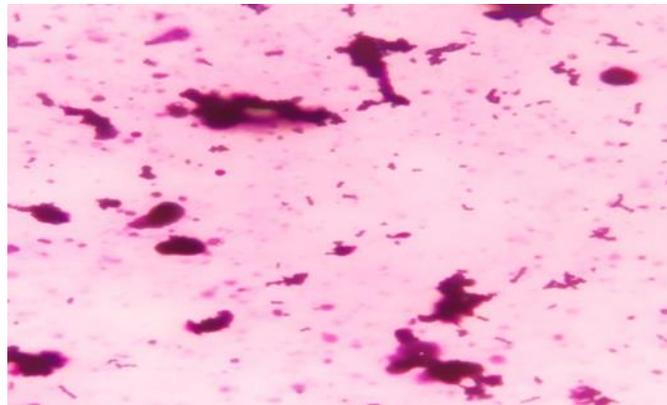


Figure 9. Observation sous microscope

3.2. Isolement sur milieu Chapman

Le milieu Chapman est utilisé dans le but d'identifier la présence de colonies de *Staphylocoque aureus*.

Les résultats sont obtenus après ensemencement sur gélose Chapman, un halo jaune est observé témoignant de la dégradation du lactose (figure 10).

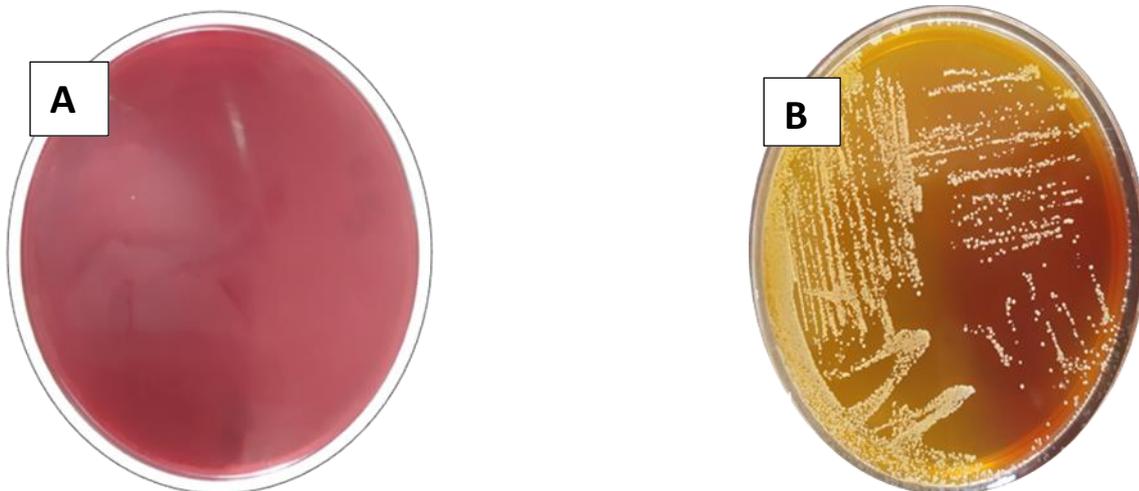


Figure10. Résultat de l'ensemencement sur milieu Chapman (A) milieu témoin (B) résultat positif avec présence des colonies de *Staphylocoques aureus*.

Autres résultats d'ensemencement sur gélose nutritif (Figure 11)



Figure11. Aspect des colonies bactériennes sur gélose nutritif.

Le tableau ci-dessus regroupe les résultats des ensemencements sur les deux types de géloses

Echan \ Gélose	Gélose Nutritif	Gélose Chapman
01	Proteus + autres colonies	<i>Staphylocoque aureus</i>
02	Colonies bactériennes	<i>Staphylocoque aureus</i>
03	<i>Proteus</i>	<i>Staphylocoque aureus</i>
04	<i>Proteus</i>	Négative
05	<i>Proteus</i>	Négative
06	<i>Proteus</i>	<i>Staphylocoque aureus</i>
07	Colonies bactériennes	Négative
08	<i>Proteus</i> + autres colonies	Négative
09	<i>Proteus</i>	<i>Staphylocoque aureus</i>

Tableau 2. Résultats des ensemencements

les bactéries isolées ont été par la suite caractérisées biochimiquement (Tube 1,2,7,8 et9).

4. Résultats des examens biochimiques

4.1. Recherche de la catalase

Un résultat positif se traduit par l'apparition de bulles d'oxygène (figure)

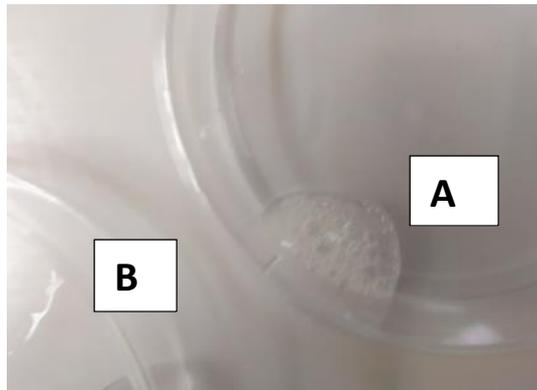


Figure 12. Test catalase (A) positif et (B) négatif

4.2. Recherche de l'oxydase

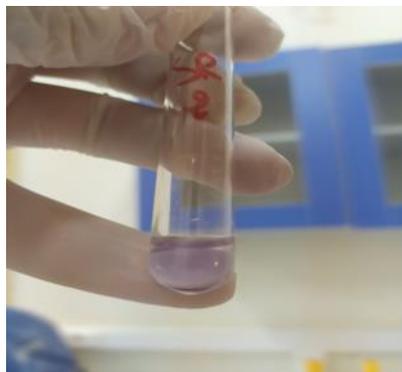


Figure 13. Test oxydase résultat positif

4.3. Test TSI



Figure 14. Test TSI : glucose positif, lactose positif, gaz négatif et H₂S négatif.

4.4. Test Mannitol – Mobilité

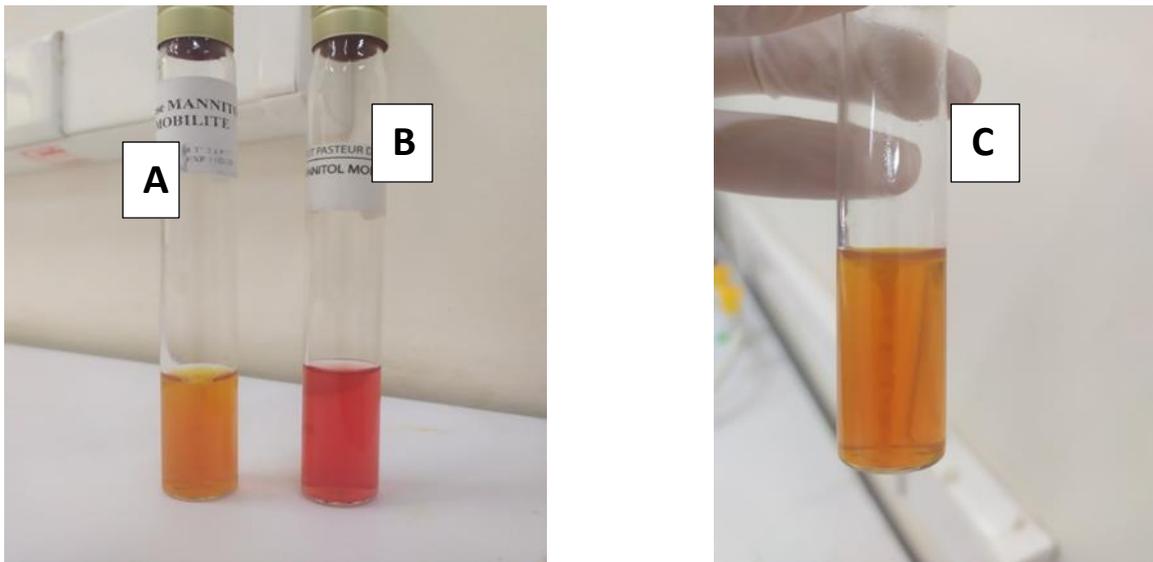


Figure 15. Test Mannitol-Mobilité (A) mannitol positif, (B) mannitol négatif et (C) mannitol positive et mobilité positif.

4.5. Test VP et RM

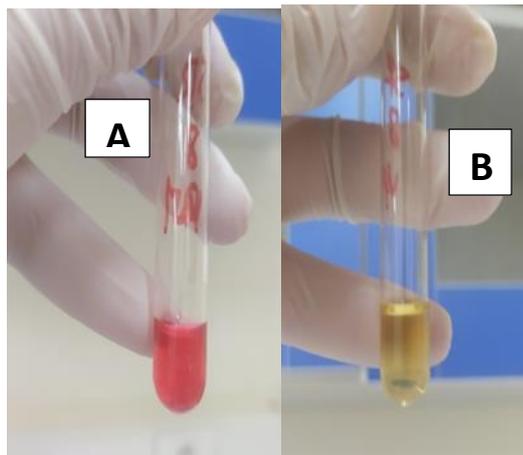


Figure 16. Test VP et RM (A) RM positif, (B) RM négatif

Pour les résultats du test VP le changement de couleur révélé est identique à celui du test RM (rouge pour positif et jaune négatif).

4.6. Test urée-indole



Figure 17. Test urée indole (A) test positif et (B) test négatif.

4.7. Citrate de Simons



Figure 18. Test Citrate de Simons ou les 4 tubes sont négatifs et le dernier est positif.

4.8. Test ONPG



Figure 19. Test ONPG positif.

Le tableau ci-dessus résume les résultats de chaque bactérie isolée aux différents caractères biochimiques recherchés.

	Cata	Oxy	Glu	Lact	H2S	Gaz	manni	Mob	citrate	Urée	indole	VP	RM	ONPG
1	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+
2	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
7	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	-	-	+	+	-/+	-	+	-	+	+
9	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+

Tableau 3 : résultats des tests biochimiques

A partir de ces résultats on a pu identifier les bactéries suivantes :

- Echantillon 1 : *Micrococcus varians*
- Echantillon 2 : *Streptocoque spp.*
- Echantillon 7 : *Klebsiella oxytoca*
- Echantillon 8 : *Escherichia colis.*
- Echantillon 9 : *Escherichia colis*

5. Sensibilités des différentes bactéries aux ATB

On a testé la sensibilité des bactéries à différentes molécules d'ATB suivants : Chloramphénicol 30ug, Ciprofloxacine 5ug, Gentamicine 15 ug, Tétracycline 30 UI, Oxacilline 1ug.

Le tableau ci-dessus résume les résultats de la résistance de ces bactéries envers les ATB.

Echantillon	Bactéries	Chloramphénicol	Ciprofloxacine	Gentamicine	Tétracycline	oxacilline
01	<i>Micrococcus</i>	intermédiaire	Intermédiaire	Resistant	Sensible	Intermédiaire
02	<i>Streptocoque</i>	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	Intermédiaire
03	<i>Staphylocoque aureus</i>	Sensible	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	Résistant
06	<i>Staphylocoque aureus</i>	Sensible	Intermédiaire	Intermédiaire	Sensible	Résistant
07	<i>Klebsiella</i>	Résistant	Intermédiaire	Intermédiaire	Résistant	Sensible
08	<i>Escherichia Colis</i>	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire	Résistant	Sensible
09	<i>Escherichia Colis</i>	Sensible	Intermédiaire	Intermédiaire	sensible	Résistant

Tableau 04. Résultats de la sensibilité des bactéries aux ATB.

Pour interpréter les résultats d'antibiogramme on a utilisé un tableau de référence (annexe 5).

III. Discussion

Le pyomètre est une forme particulière de métrite, avec accumulation de pus liée à l'activité sécrétoire des glandes endométriales. Il fait souvent suite à une hyperplasie glandulo-kystique, et a lieu en phase lutéale. Il se caractérise par des écoulements vulvaires intermittents ou continus. Cette affection touche tous les canidés et félinés, en raison de leur phase progestéronique longue et de la conformation horizontale de leur utérus.

Notre étude a porté sur l'analyse et la caractérisation des bactéries présentes lors de pyomètre chez les carnivores domestiques. Les échantillons ont été recueillis aux sévices de consultations de médecine et de chirurgie à l'ENSV et dans certains cabinets vétérinaires privés à Alger.

Dans Cette étude la plupart des échantillons prélevés étaient d'origine féline, cela nous laisse supposé que les cas de pyomètre sont plus fréquents chez la chatte que chez la chienne, ce résultat est similaire à celui d'une étude réalisée en 2016 et qui indique que la fréquence du pyomètre chez les chattes était beaucoup plus élevée que chez la chienne (Hollinshead et Krekeler., 2016). Cependant d'autres études indiquent le contraire en précisant que le pyomètre était plus fréquent chez la chienne en raison de la forte imprégnation de la progestérone chez cette espèce animale (Hgaman., 2018).

Les cas de pyomètres recensés au niveau des cabinets vétérinaires étaient faibles. Le motif présenté par les vétérinaires était que le diagnostic était difficile à établir et que la majorité des animaux atteints meurent avant que le traitement ne soit instauré.

D'après les résultats des analyses microbiologiques nous avons pu identifier des bactéries décrites dans de nombreuses études. Nous avons isolé les espèces suivantes : *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Streptocoque*, *Klebsiella*, *Staphylocoques* et *Proteus*. Selon les études de Fransson & Claud en 2003 et de Hollinshead & Krekeler en 2016 la bactérie la plus fréquente lors de pyomètre est *Escherichia coli* alors que l'étude de Santanna et ses collaborateurs associent d'autres bactéries entéropathogènes telles que *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus*, d'autres anaérobies Gram- et Gram+. En 2006, Bousquet isole l'espèce *Arcanobacterium pyogenes* dans des cas de pyomètre. Il s'agit de la seule étude qui associe ce pathogène à cette affection.

L'analyse de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis aux antibiotiques a montré que les *Micrococcus* ne présentaient aucune résistance.

En revanche, les staphylocoques étaient résistants vis-à-vis de l'oxacilline de même qu'*Escherichia coli*. L'espèce bactérienne *klebsiella* était sensible à l'oxacilline résiste mais résistante à la tétracycline. Ces résultats sont similaires à ceux décrits par Fransson et Clauden (2003).

Conclusion et recommandation

Le schéma thérapeutique du pyomètre dépend de l'état clinique de l'animal et de la présence de complications. La prise en charge de ces dernières est une priorité, nécessitant très souvent la mise en place d'une antibiothérapie. Un traitement médical repose sur plusieurs administrations d'une ou de plusieurs molécules d'antibiotiques (après réalisation d'un antibiogramme), visant à nettoyer et vider l'utérus. L'efficacité des techniques médicales est variable et les récurrences peuvent être fréquentes, notamment lors de résistance bactérienne.

La chirurgie est une technique sûre et efficace pour traiter le pyomètre ; l'anesthésie représente le plus gros inconvénient selon l'état clinique de l'animal. Elle consiste en le retrait des deux ovaires et de l'utérus infecté. C'est le seul traitement envisageable lors de péritonite avec rupture de l'utérus, une fois que les complications ont été prises en charge.

En conclusion, le pyomètre est donc une urgence médicale dans la mesure où le pronostic vital de l'animal est engagé à plus ou moins court terme. Le choix thérapeutique définitif doit être établi au cas par cas en fonction des données épidémiologique et cliniques de l'animal, ainsi que des considérations financières.

Références bibliographiques

Assis et al., 2019 MANUEL DE MICROBIOLOGIE TRAVAUX PRATIQUES -PARTIE GÉNÉRALE MÉDECINE GÉNÉRALE, SECTION FRANÇAISE, VOL1, pages 61-63

Barone R. Appareil uro-génital. Anatomie comparée des mammifères domestiques Tome 4, 2001, pp 397-405.

Bent Mohamed et mint sidi baba,(2007-2008), Manuel de travaux pratique de microbiologie. Université de Nouakchott.

Berdy J. (2005). Bioactive microbial metabolites. J. Antibiotics 58, pp 1-22

Berdy J., Aaszalos A. and Mc Nitt K.L. (1987). CRC Handbook of antibiotic compounds. Vol. XIII. Microbial metabolites. Part 1,2,3. Florida, USA. CRC Press, Boca Raton.

Boussena Sabrina, 2020 Manuel des travaux pratiques de bactériologie, Institut des Sciences Vétérinaires Département de Productions Animales, pages 17-50.

Bousquet Melou A. Antibiothérapie des infections utérines. Enseignement de Second Cycle, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2006 (thèse Agnès Marie Elodie Bourgois)

Budras K.D., McCarthy P.H., Fricke W, Richter R. Urinary and Genital Organs, Pelvis. In : Anatomy of the Dog, 2007, 5th Ed, Schlütershe, pp 66-67.

Cattoir V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *pathologie. Biologie*, 52, pp 607-616.

Cavallo J.D. (2004). Betalactamines., Elsevier, pp 130-180.

Demerc, 1948, P24 Journal Omaha Midwest society.

Feldman E.C., Nelson R.W. Ovarian cycle and vaginal cytology. In: Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 2004, 3rd Edition, Saunders, pp 752-774.

Fieni F, Eopie E et Gogny A (2014), traitement medical du pyomètre chez le chien, revue anglaise, pp 28-32.

Fauchere J.L et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses, pp 105-111

François D. Bactériologie médicale Techniques usuelles, chapitre 2 Démarche de l'examen bactériologique, 2011, 11^{ème} Ed, pp 13-33.

François D, Poly M, Christian M et Vincent C. Bactériologie médicale Techniques usuelles, 2016, chapitre Du prélèvement à la caractérisation des souches, pp 15-43.

Fransson B et Claude R.A (2003); pyomètre canine : un mise a jour sur la pathogenèse et traitement, revue anglaise, Vol.25,N°8, pp 602-610.

Fransson, B.A. Ovaries and Uterus. In: VETERINARY SURGERY SMALL ANIMAL. Tobias K.M & Johnston S.A. 2012, Elsevier Saunders. pp 1871-1901

Gillian,M. SimpsonG.M, England G.C and Harvey M.J. Manual of small animal reproduction and neonatology. 2014,1st Ed, pp 1- 16

Greer L.M Canine Reproduction and Neonatology, Chapter Infertility and Reproductive Problems in the Valuable Bitch. 2014, pp 218-229

Hagman R (2018), Pyometra in small animals, Article in veterinary clinics of North America small Animal practice, Vol48, issue 4, pp 640-657

Hollinshead F and Krekeler N (2016), pyometra in the queen : to spay or not to spay++, review article, pp 21-33

Le Minor, L., & Véron, M (Eds). (1982). Bactériologie médicale. Flammarion médecine-science

Lederbeg J & Tatum E.L. (1946). Gene recombination in Escherichia coli. *Nature*,pp 158-558

Leyral G & Vierling E. (2007). *Microbiologie et toxicologies des aliments : hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.

Lesley G.K and Amanda B. BSAVA Manuel of canine and feline Emergency and Critical Care, 2018, 3rd Ed, pp 252-253

Liao À, Huang W.H and Wang S.L, (2020), BACTERIAL ISOLATION AND ANTIBIOTIC SELECTION AFTER OVARIOYSTERECTOMY OF CANINE PYOMETRA: A RETROSPECTIVE STUDY OF 55 CASES, Taiwan Veterinary Journal (2020), pp 1-8

Lwoff A, Siminivitch L & Kjeldgaard N. (1950). Induction de la lyse bactériophagique de la totalité d'une population microbienne lysogène. COMPTES RENDUS EBDOMADAIRES DES SEANCES DE L'ACADEMIE DES SCIENCES , 231(2), pp 190-191.

Maillard S.C, Karine,R and Marie.Saint.d. La particularité de la reproduction chez la chienne. In: .livre de la reproduction animal et humain, 2014 pp éditeur.

Meziani Meriem. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et Pseudomonas. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine.

Pilet C, Person JM, Frottis J, Bastin R, Barrat F. (Lymphoblaste transformation test and te diagnostic of chronic brucellosis). Bull Acad Nalt Med.nov 1983; 167(8): 845-8

Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.A, Bacq-Calberg C.M and Dusart J. (2002). Microbiologier. De Boeck University, pp 1147.

Root Kustritz M.V. Clinical canine and feline reproduction, evidence_based answer, 2010, 1st Ed pp, 69 - 74 and 221 -214

Santana1 C.H and Santos R.L, (2021), Canine Pyometra- an update and revision of diagnostic terminology, Brazilian Journal of Veterinary Patology, Vol14i1, pp 1-8

Singh.B. The Urogenital Apparatus. In: DYCE, SACK AND WENSING'S TEXTBOOK OF VETERINARY ANATOMY. 2018, 5th Ed., pp 777-786

Smith F.O, (2006), Canine pyometra, [www.journals.elsevierhealth.com /periodicals/the](http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/the), pp 610-613

Smith.B. Urogenital System. In Atlas of Feline Anatomy For Veterinarians. Hudson L.C& Hamilton W.P. 2nd Ed. Teton Newmedia, 2010, pp 171-192

Smith A.L, Erwin A.L, Kline T, William C.T, Unrath K.N, Weber A and Howald W.N. (2007). Chloramphenicol is a substrate for a novel nitroreductase pathway in *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, pp 2820-2829.

Yala D, Merad A.S, Mohammedi D, and Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91, 5-12.

(<https://pin.it/5P22qqy> biofaculté)

(<https://pin.it/3QBXU7r> biologywitsaxe)

(<http://www.devsante.org>)

Annexes

Fiche type d'un questionnaire

But : fiche d'enquête concernant les cas du pyomètre chez les chattes et les chiennes.

Partie 1 : identité

- Cabinet/clinique?
- Région (willaya) :.....
- Adresse / tel/.....

Partie 2 : attitudes – connaissances :

Animal:

Espèce (chien/ chat) :

- Est-ce que le pyomètre est le motif de consultation ou bien découvert lors d'un examen clinique ou bien lors d'une ovariectomie de convenance.

.....
.....
.....
.....

- Traitement médical ? Si c'est oui : dose ? Durée du traitement ? Résultats ? Est-ce que l'état générale est amélioré et au bout de combien de jours ? Y a des portées après l'utilisation du traitement si c'est oui combien ?

.....
.....
.....
.....

- Qu'est ce qui a motivé la décision ? Le traitement médical n'a pas été tenté

.....
.....

- Le délai entre la découverte de l'écoulement si il y a par le propriétaire et l'intervention ?

.....
.....
.....

- Aspect de l'utérus lors de l'intervention ?

.....
.....

- Pour quel type de douleur vous utilisez les analgésiques (combien un/2) et lequel ? Anti-inflammatoire ?AINS,lequel?.....

.....
.....
.....
.....

Post-opératoire :

- Antibiothérapie ? Quel antibiotique ? Dose ?voie (orale ; injections) ? Durée du traitement ? État générale est ce qu'il est amélioré de façon rapide au bout de combien de jours

.....
.....
.....
.....
.....

1. Annexe 2 : Bouillon nutritif BHIB

Pour 1L d'eau physiologique :

- Extrait cœur / cervelle17.5g
- Peptone pancréatique de gélatine10g
- Chlorure de sodium.....5g
- Phosphate disodique2.5g
- Glucose2g

PH : 7.4

2. Annexe 3 : composition du milieu Chapman

- Extrait de viande1g/l
- Peptone de caséine et de viande.....10g/l
- Chlorure de sodium.....75g/l
- Mannitol10g/l
- Agar15g/l
- Rouge de phénol0.025g/l

PH : 7.6

3. Annexe 4 : composition du milieu MUELLEUR HINTON

- Infusion de viande de bœuf300ml
- Peptone de caséine17.5g
- Amidon de maïs1.5g
- Agar10g

PH : 7.4

Valeurs critiques définies pour toutes ces molécules :

Antibiotiques	Charges du disque	Concentrations critiques (µg/ml)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	≥ 16	≥ 19	≤ 14	(1)
Amox./Ac clav	20/10 µg	≤ 4/2	≥ 16/2	≥ 21	≤ 14	(1)
Cefalotine	30 µg	≤ 8	≥ 32	≥ 18	≤ 12	(1)
Cefotaxime	30 µg	≤ 4	≥ 32	≥ 21	≤ 15	(1)
Streptomycine	10 UI	≤ 8	≥ 16	≥ 15	≤ 13	(1) (2)
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	≥ 4	≥ 18	≤ 16	(1) (2)
Kanamycine	30 UI	≤ 8	≥ 16	≥ 17	≤ 15	(1) (2)
Tobramycine	10 µg	≤ 2	≥ 4	≥ 18	≤ 16	(1) (2)
Erythromycine	15 UI	≤ 1	≥ 4	≥ 22	≤ 17	(1)
Ac. nalidixique	30 µg	≤ 8	≥ 16	≥ 20	≤ 15	(1)
Ciprofloxacine*	5 µg	≤ 0,5	≥ 1	≥ 25	≤ 22	(1)
Tetracycline	30 UI	≤ 4	≥ 8	≥ 19	≤ 17	
Chloramphenicol	30 µg	≤ 8	≥ 16	≥ 23	≤ 19	

Lecture et interprétation :

Remarques : Selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir. En cas de doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.

- (1) : Pour *Campylobacter spp.*, une absence de zone d'inhibition autour des disques de β-lactamines, aminosides, macrolides ou quinolones traduit une résistance de haut niveau
- (2) : Compte tenu des conditions d'incubation (anaérobiose ou microaérobiose), les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'aminosides sont toujours réduits.

Table 6.1 Zone size interpretation chart (Modified from CLSI (2008) M31-A3)

Antimicrobial agent	Disc content in µg unless otherwise stated	Diameter of zone of inhibition to nearest mm		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
Aminikacin	30	≥ 17	15-16	≤ 14
Ampicillin-clavulanic acid	20/10	≥ 20	-	≤ 19
Staphylococci	20/10	≥ 18	16-17	≤ 13
Other organisms				
Ampicillin	10	≥ 17	14-16	≤ 13
Enterobacteriaceae	10	≥ 29	19-25	≤ 18
Staphylococci	10	≥ 26	19-25	≤ 18
Streptococci (Not S. pneumoniae)	10	≥ 17	-	≤ 16
Enterococci	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Ceftazolin	10	≥ 21	18-20	≤ 17
Ceftiofur				
Dogs (pathogens isolated from wounds or abscesses)	30	≥ 21	18-20	≤ 17
Ceftiofur	30	≥ 22	-	-
Staphylococcus equi subsp. zooepidemicus	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Cephalexin	2	≥ 21	15-20	≤ 14
Clindamycin (dogs)				
Staphylococcus spp.	5	≥ 22	-	-
Danofloxacin (M. haemolytica and P. multocida in cattle respiratory disease)	10	≥ 21	18-20	≤ 17
Difloxacin (skin and urinary tract infections in dogs)	5	≥ 23	17-22	≤ 16
Enrofloxacin	5	≥ 21	17-20	≤ 16
Bovine respiratory pathogens				
Erythromycin	15	≥ 23	14-22	≤ 13
Staphylococcus and Enterococcus spp.	15	≥ 21	16-20	≤ 15
Flortefencol	30	≥ 19	15-18	≤ 14
Bovine respiratory pathogens	30	≥ 22	19-21	≤ 18
Human respiratory pathogens	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Gentamicin	10	≥ 16	14-15	≤ 13
Imipenem	30	≥ 18	14-17	≤ 13
Kanamycin	5	≥ 20	15-19	≤ 14
Marbofloxacin (infections in dogs and cats)	10	≥ 23	18-22	≤ 17
Orbifloxacin (infections in dogs and cats)				
Discs				
Staphylococcus aureus	1	≥ 13	11-12	≤ 10
Staphylococcus spp.	1	≥ 18	-	≤ 17

Amikacin
 Amoxicillin - clavulanic Acid
 Ampicillin
 Cefazolin
 Cefpodoxime
 Ceftriaxone
 Cefalotine
 Clindamycin
 Danofloxacin

Annexe 5. Abaque de décision (tableau 1 et 2)