



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Institut des Sciences Vétérinaires

Thèse de doctorat

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat L.M.D

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

Spécialité : Sciences Vétérinaires

Présentée par :

AIT ABDELKADER Sabrina

Thème

**Evaluation du statut inflammatoire et sa relation avec les
endométrites post saillie et la fertilité chez la jument**

Soutenu publiquement le 25/02/2024

Devant le jury :

M ^r KHIATI Baghdad	Président	Professeur	Université de Tiaret
M ^r BENIA Ahmed Redha	Examineur	MCA	Université de Tiaret
M ^r AICHOUNI Ahmed	Examineur	Professeur	Université de Tissemsilt
M ^r AMMAM Abdelkader	Examineur	MCA	Université de Saida
M ^r BENALLOU Bouabdellah	Directeur de thèse	Professeur	Université de Tiaret
M ^r AYAD Mohamed Amine	Co-Directeur de thèse	MCA	Université de Tiaret

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

Tout d'abord, je remercie notre bon dieu de m'avoir donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce travail.

Je tiens par la présente à exprimer mes plus sincères remerciements et gratitude à mes chers parents, et mon cher mari qui m'ont tant aidé et soutenu que ce soit par leurs encouragements durant toute la période de la recherche, mais aussi financièrement pour achever ce travail. Votre soutien constant et votre encouragement indéfectible tout au long de mes études. Votre amour, votre confiance ont été mes sources d'inspiration les plus profondes.

Je souhaite également exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de thèse **Pr BENALLOU Bouabdellah**, pour son soutien et sa guidance tout au long de mon parcours de recherche et d'écriture de cette thèse de Doctorat. Pour son expertise, sa patience et sa disponibilité qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Je souhaite remercier également mon co-encadreur **Dr AYAD Mohamed Amine**, qui a accepté de m'aider pour réaliser cette thèse et m'a offert des conseils précieux qui ont été une source d'inspiration tout au long de ce processus.

Je tiens à remercier sincèrement tous les membres de mon comité de thèse (**Pr KHIATI Baghdad, Pr AICHOUNI Ahmed, Dr BENIA Ahmed Redha, et Dr AMMAM Abdelkader**) pour leur précieuse contribution et leurs suggestions constructives. Votre examen attentif et vos commentaires éclairés ont grandement amélioré la qualité de ce mémoire.

Je également à exprimer ma reconnaissance envers tous les enseignants mais plus précisément à **Pr Moussa Ahmed, Pr HEMIDA Houari, Dr SELLES Sidi Mohammed Ammar, Dr AIZA Asma** de m'avoir tendu la main et étaient d'une aide précieuse dans la réalisation et achèvement de cette thèse.

Je remercie également tous les ingénieurs des différents laboratoires **Mr AISSA Mohamed Amina, Mr AOURAIE Djilali, Mme AIT NAMANE Karima, Mme KHELIL Schahrazed Djihane, et Mme BOUDALI Soumia**, d'avoir été présents durant les différentes manipulations dans les laboratoires.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance envers mes collègues et mes amis **BELKHEMAS Amina, BENOUDAH Sara Nesrine, MAKHLOUFI Amine, HADJ BOUSSAADA Yassine**, qui ont soutenu et encouragé mes efforts tout au long de cette aventure académique. Votre soutien moral et vos discussions enrichissantes ont été d'une valeur inestimable pour moi.

Je remercie également du fond du cœur **Mr FEGHOULI Ahmed** propriétaire du HARAS EL MESK qui m'a accueillie chaleureusement au niveau de son haras et fait confiance pour la réalisation des différents prélèvements sur des juments de valeurs.

Un remerciement spécial pour **Dr ANANE Ouadah** vétérinaire pratiquant au niveau du haras, qui m'a beaucoup aidé durant toute cette période de recherche, son expertise, sa patience ont été un motif d'encouragement pour moi.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au laboratoire d'analyses médicales de **MAACHI et BOUZIANE**, ainsi que tous les laborantins de m'avoir accueilli dans leur établissement, et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour le bon déroulement du travail.

Je tiens à remercier **Dr DJENANE Mouloud Amine** de m'avoir aidé dans tout ce qui concerne l'informatique, pour sa disponibilité et son encouragement.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents, mon mari, et mes petites sœurs qui sont ma source de bonheur et ma raison de vivre.

Mes beaux-parents, mes belles sœurs, leurs enfants qui occupent une place dans mon cœur.

*Ma cousine *Yasmine* qui a été présente durant mes hauts et mes bas.*

Mes amie Asma et Aya d'avoir toujours été présentes.

Toute ma famille et mes proches.

Toute personne ayant participé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

RESUME

Les endométrites sont des causes d'infertilité les plus fréquents chez les juments. Elle peut être difficile à traiter et entraîner des pertes économiques importantes.

L'objectif de cette étude était de diagnostiquer l'endométrite post-saillie à temps afin d'éviter les endométrites chroniques, identifier les facteurs de risques, et voir la relation entre les endométrites post-saillie et la fertilité par les différents moyens de diagnostic tels que : l'échographie, la cytologie endométriale, la microbiologie, la biopsie, le dosage hormonal, hématologique et biochimique. 18 juments ont été sélectionnées aléatoirement âgé de 4 à 20 ans, parmi les 160 juments examinées au cours de la période d'étude allant du 15 Février 2022 au 30 Juin 2023. L'échographie transrectale a été utilisée pour examiner les juments, lorsqu'un diamètre folliculaire d'au moins 35 mm a été observé, le premier échantillon a été prélevé 24 heures avant la saillie ou l'insémination artificielle, le même échantillon a été prélevé 6 et 48 heures après, un lavage utérin à faible volume pour la microbiologie, un échantillon de sang pour la mesure de la progestérone, une numération formule sanguine complète et un dosage des protéines totales plasmatiques, une cytologie utérine à l'aide d'une cytobrosse, et finalement une biopsie utérine. Le traitement était basé sur un lavage utérin à base d'une solution physiologique et un agent ecologique pour une bonne contraction utérine et/ou une infusion utérine à base d'antibiotique, lorsque 2 juments ont développé une résistance à l'antibiotique, une infusion utérine au miel a été proposée.

55.6% des juments ont été vides, le taux de P4 était en hausse, la cytologie a révélé une présence de polymorphonucléaires de règle 6h après la saillie indiquant la présence d'une inflammation, et la disparition de tous les neutrophiles 48h après la saillie sauf chez les juments qui ont montré une présence des fluides intra-utérins 48h après la saillie. Les espèces bactériennes les plus isolées dans cette recherche sont *E.coli* 32%, *Enterococcus faecium* 24%, et *Staphylococcus spp* 12%. Le score de biopsie selon Kenney et Doig était IIA. Le dosage sanguin a révélé quelques changements non significatifs, et l'efficacité du miel été observé chez 1 seule jument.

La cytobrosse et l'échographie sont un moyen excellent pour déterminer l'inflammation sans préciser son origine d'où le recours à la microbiologie. Le dosage de la progestérone n'a aucun intérêt clinique, en plus de sa cherté, le dosage sanguin n'a aucune relation avec les endométrites post-saillie d'où leur nature locale. La biopsie est un moyen révélateur. Et le traitement au miel est un bon moyen alternatif pour le traitement des endométrites avec une nécessité de recherches plus poussées.

Mots clés : Endométrites post-saillie, Cytologie, Microbiologie, Infusion utérine au miel, Biopsie, Dosage sanguin.

ABSTRACT

Endometritis is one of the most common causes of infertility in mares. It can be difficult to treat and lead to significant economic losses.

The aim of this study was to diagnose post breeding induced endometritis in time to avoid chronic endometritis, to identify risk factors, and to identify the relationship between post breeding induced endometritis and fertility by different diagnostic means such as: ultrasound, endometrial cytology, microbiology, biopsy, hormonal, haematological and biochemical assays. 18 mares were randomly selected, aged between 4 and 20 years, from the 160 mares examined during the study period from 15 February 2022 to 30 June 2023. Transrectal ultrasound was used to examine mares, when a follicular diameter of at least 35 mm was observed, the first sample was collected 24 hours before mating or artificial insemination, the same sample was taken 6 and 48 hours after mating, a low-volume uterine lavage for microbiology, a blood sample for progesterone measurement, a complete cell blood count and total plasma protein assay, uterine cytology using a cytobrush, and finally a uterine biopsy. Treatment was based on uterine lavage with a physiological solution and an ecbolic agent for good uterine contraction and/or uterine antibiotic infusion based. When 2 mares developed resistance to the antibiotic, a honey uterine infusion was proposed.

55.6% of the mares were empty, the progesterone rate was rising, cytology revealed the presence of polymorphonuclear neutrophils 6h after mating indicating the presence of inflammation, and the disappearance of all neutrophils 48h after mating except in the mares that showed the presence of intra-uterine fluids 48h after mating. The bacterial species most frequently isolated in this research were *E.coli* 32%, *Enterococcus faecium* 24%, and *Staphylococcus spp* 12%. The Kenney and Doig biopsy score was IIA. Blood tests revealed some non-significant changes, and the efficacy of honey was observed in only 1 mare.

Cytobrush and ultrasonography are an excellent means of determining inflammation without specifying its origin, hence the use of microbiology. The progesterone assay is of no clinical interest, in addition to being expensive, and the blood assay has no relationship with post breeding induced endometritis, hence its local nature. Biopsy is a revealing method. Honey treatment is a good alternative for the treatment of endometritis, but requires further research.

Key words: Post breeding induced endometritis, Cytology, Microbiology, Uterine infusion by honey, Biopsy, Blood test.

ملخص:

يعد التهاب بطانة الرحم أحد الأسباب الأكثر شيوعاً للعقم عند الأفراس. قد يكون من الصعب علاجه ويؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة.

كان الهدف هذه الدراسة هو تشخيص التهاب بطانة الرحم المحدث بعد التكاثر في الوقت المناسب لتجنب التهاب بطانة الرحم المزمن، وتحديد عوامل الخطر، ومعرفة العلاقة بين التهاب بطانة الرحم المحدث بعد التكاثر والخصوبة باستخدام وسائل التشخيص المختلفة مثل: الموجات فوق الصوتية، وعلم خلايا بطانة الرحم، وعلم الأحياء الدقيقة، والخزعة، الجرعة الهرمونية والدموية والكيميائية الحيوية.

تم اختيار 18 فرسا، تتراوح أعمارهم بين 4 و20 عاماً، من بين 160 فرسا تم فحصها خلال فترة الدراسة من 15 فبراير 2022 إلى 30 يونيو 2023. تم استخدام الموجات فوق الصوتية عبر المستقيم لفحص الأفراس، عندما يبلغ قطر الجريبات 35 ملم على الأقل. تم ملاحظة أنه تم جمع العينة الأولى قبل 24 ساعة من التزاوج أو التلقيح الاصطناعي، وتم أخذ نفس العينة بعد 6 و48 ساعة من التزاوج، وغسل الرحم بكمية منخفضة للأحياء الدقيقة، وعينة دم لقياس هرمون البروجسترون، وفحص كامل للرحم. صيغة تعداد الدم وفحص بروتين البلازما الكلبي، وعلم خلايا الرحم باستخدام الفرشاة الخلوية، وأخيراً خزعة الرحم. يعتمد العلاج على غسل الرحم بمحلول فسيولوجي وعامل انقباضي للرحم من أجل انقباض جيد للرحم و/أو تسريب مضاد حيوي رحمي. عندما طورت فرسان مقاومة للمضادات الحيوية، تم اقتراح تسريب الرحم بالعسل.

55.6% من الأفراس لم تحمل، ومستوى البروجستين في ارتفاع، وكشف علم الخلايا عن وجود خلايا التهابية بعد 6 ساعات من التزاوج مما يدل على وجود التهاب، واختفاء جميع الخلايا الالتهابية بعد 48 ساعة من التزاوج باستثناء الأفراس التي أظهرت وجود التهاب. أكثر أنواع البكتيريا المعزولة في هذا البحث هي *Enterococcus faecium* 24%، و 12% *Staphylococcus spp.* كانت نتيجة الخزعة وفقاً لكيبي ودويج هي IIA. كشف فحص الدم عن بعض التغيرات غير المهمة، ولوحظت فعالية العسل في فرس واحد فقط.

تعتبر الفرشاة الخلوية والتصوير بالموجات فوق الصوتية وسيلة ممتازة لتحديد الالتهاب دون تحديد مصدره، ومن هنا يتم استخدام علم الأحياء الدقيقة. ليس لفحص البروجسترون أي أهمية سريرية، بالإضافة إلى كونه باهظ الثمن، ولا علاقة لفحص الدم بالتهاب بطانة الرحم بعد التكاثر، ومن هنا طبيعته المحلية. الخزعة هي طريقة كاشفة. بعد العلاج بالعسل بديلاً جيداً لعلاج التهاب بطانة الرحم، ولكنه يحتاج إلى مزيد من البحث.

الكلمات المفتاحية: التهاب بطانة الرحم المحدث بعد التكاثر، علم الخلايا، علم الأحياء الدقيقة، حقن الرحم بالعسل، الخزعة، فحص الدم.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Bactéries et champignons communs isolés dans les utérus de juments souffrant d'endométrite (Canisso et al., 2020).....	26
Tableau 02 : Les valeurs hématologiques usuelles chez le cheval (Jain, 1986)	28
Tableau 03 : la valeur des protéines totales plasmatiques chez le cheval (Fontequé et al., 2015)	29
Tableau 04 : Les scores de la biopsie endométriale de la jument attribués par Kinney et Doig (Van Camp, 1988).....	30
Tableau 05 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les entérocoques	44
Tableau 06 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les staphylocoques	45
Tableau 07 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les pasteurelles.....	45
Tableau 08 : Informations sur le miel.....	51
Tableau 09 : Taux de gestation et fertilité en fonction du nombre de cycles chez les 18 juments. (Tests du Khi-deux).	52
Tableau 10 : Examen échographique des juments présentant un œdème utérin de degré 0 à 3, et la localisation des IUF au niveau utérin.....	53
Tableau 11 : Présence des différents microorganismes après culture dans les différentes phases de prélèvements (Test du Khi-deux).....	56
Tableau 12 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de PBIE d'origine infectieuse (E. coli).	58
Tableau 13 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de Staphylococcus spp.	58
Tableau 14 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de PBIE d'origine infectieuse (Pasteurella spp).....	58
Tableau 15 : Tableau récapitulatif présentant les résultats de la cytologie endométriale chez les 18 juments (Tests du Khi-deux).....	59
Tableau 16 : Taux de progestérone plasmatique durant les 3 prélèvements chez les 18 juments (Test ANOVA).....	62
Tableau 17 : Moyenne de la zone d'inhibition dans les 2 espèces isolées.	71

Liste des figures

Figure 01 : Vue dorsale de l'appareil reproducteur de la jument (Brinsko et al., 2011).	4
Figure 02 : Vue latérale de l'appareil reproducteur de la jument et des structures adjacentes (Brinsko et al., 2011).	5
Figure 03 : Coupe de corne utérine de la jument (Kainer, 1993).	7
Figure 04 : Coupe histologique d'un utérus d'une jument (Thompson et al., 2020).	8
Figure 05 : Représentation de l'endomètre pendant l'œstrus et au moment de la lutéolyse pendant le diœstrus (Thompson et al., 2020).	10
Figure 06 : Aperçu de la dynamique des cytokines endométriales chez les juments résistantes et sensibles à l'endométrite, immédiatement avant (0 heure) et 24 heures après la mise à la reproduction (Canisso et al., 2020).	15
Figure 07 : Images échographiques en coupe des cornes utérines chez la jument (Canisso et al., 2020).	17
Figure 08 : Brosse cytologique « cytobrosse » (Walton et al., 2021).	19
Figure 09 : Cellules épithéliales utérines normales (cellules endométriales). Diff-Quik, grossissement original 100× (Walton et al., 2021).	20
Figure 10 : Cellules endométriales provenant du même échantillon cytologique de la figure	21
02. Formation de petites vacuoles dans le cytoplasme, ce qui est normal chez les juments cycliques. (Diff-Quik, grossissement original 1000×) (Walton et al., 2021).	21
Figure 11 : Cellules épithéliales utérines qui possèdent au centre des cils. Échantillon obtenu par cytobrosse endométriale. Diff-Quik, grossissement original 1000× (Walton et al., 2021).	22
Figure 12 : Un neutrophile dégénéré est observé phagocytant des bactéries (flèche) dans une cytologie endométriale d'une jument atteinte d'une endométrite infectieuse due à <i>Streptococcus zooepidemicus</i> . D'autres neutrophiles peuvent également être appréciés sur cette image. Diff-Quik, grossissement original 1000× (Walton et al., 2021).	23
Figure 13 : Neutrophiles et macrophages (flèche) présents chez une jument atteinte d'endométrite chronique due à un retard de clairance utérine due à une incompetence du col de l'utérus. Diff-Quik, grossissement original 200× (Walton et al., 2021).	23
Figure 14 : Présence d'éosinophiles dans la cytologie endométriale d'une jument pouvant résulter d'une mauvaise d'une mauvaise conformation périnéale, d'un pneumovagin ou d'une accumulation d'urine dans le vagin (Walton et al., 2021).	29
Figure 15 : Échantillons de biopsie de l'endomètre colorés au H&E (grossissement ×20, insert ×40).	38
Figure 16 : Localisation géographique du lieu d'étude.	38
Figure 17 : Situation géographique et présentation du haras	39

Figure 18 : Situation géographique et présentation de la bergerie équine de l'ISV Tiaret. Figure 19 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument (échographe Sonoscape A6 fréquence 5 à 7 MHz), représentant un œdème utérin physiologique avec un signe de chaleurs (tranche d'orange). Classification des degrés des IUF (degré 0). (Photo personnelle).	54
Figure 20 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument (échographe Sonoscape A6 fréquence 5 à 7 MHz), représentant une accumulation légère des liquides dans la corne utérine <20 mm. Classification des degrés des IUF (degré 1). (Photo personnelle).	54
Figure 21 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument (échographe Sonoscape A6 fréquence 5 à 7 MHz), représentant une accumulation modérée des liquides dans la corne utérine >20 mm. .Classification des degrés des IUF (degré 2). (Photo personnelle).	55
Figure 22 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument (échographe Sonoscape A6 fréquence 5 à 7 MHz), représentant une accumulation sévère des liquides dans la corne utérine >20 mm. . Classification des degrés des IUF (degré 3). (Photo personnelle).	55
Figure 23 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument (échographe Sonoscape A6 fréquence 5 à 7 MHz), représentant un kyste utérin. (Photo personnelle).	56
Figure 23 : Nombre d'isolats après culture bactérienne.....	56
Figure 24 : Prélèvement 24 h avant la saillie/IA avec une cytobrosse, présence des cellules endométriales en amas colorées avec le Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).	60
Figure 25 : Prélèvement 6 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence des cellules endométriales dispersées, des cellules inflammatoires PMN>5 par champ, des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).....	60
Figure 26 : Prélèvement 48 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence de quelques cellules endométriales dispersées, de quelques cellules inflammatoires PMN < 5, disparition des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).....	61
Figure 27 : Prélèvement 48 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence de quelques cellules endométriales dispersées, disparition des cellules inflammatoires PMN < 5, élimination des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).	61
Figure 28 : Coupe histologique réalisée à partir d'une biopsie utérine d'une jument. La figure à gauche représente une érosion de l'épithélium et la présence de cellules inflammatoires. La figure à droite contient une infiltration inflammatoire, une hémorragie et un œdème. (Photos personnelles).	70
Figure 29 : Présence des liquides intra-utérins 24h après l'infusion au miel (à gauche jument 02, à droite jument 01). Echographe (Draminski iScan) (Photos personnelles).	71

Liste des graphes

Graphe 01 : Le taux de gestation chez les 18 juments étudiées.....	53
Graphe 02 : Diagramme circulaire des espèces bactériennes isolées.	57
Graphe 03 : Résultats d’FNS pour les leucocytes chez les 18 juments durant les 3 prélèvements.	63
Graphe 04 : Résultats d’FNS pour les hématies chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	63
Graphe 05 : Résultats d’FNS pour le taux d’hémoglobine chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	64
Graphe 06 : Résultats d’FNS pour le taux d’hématocrite chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	64
Graphe 07 : Résultats d’FNS pour le VGM chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	65
Graphe 08 : Résultats d’FNS pour la TCMH chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	65
Graphe 09 : Résultats d’FNS pour la CCMH chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	66
Graphe 10 : Résultats d’FNS pour les plaquettes sanguines chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	66
Graphe 11 : Résultats d’FNS pour les neutrophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	67
Graphe 12 : Résultats d’FNS pour les éosinophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	67
Graphe 13 : Résultats d’FNS pour les basophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	68
Graphe 14 : Résultats d’FNS pour les lymphocytes chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.	68
Graphe 15 : Résultats d’FNS pour les monocytes chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.....	69
Graphe 16 : Résultats du dosage des protéines totales sanguines.	69

Liste des photos

Photo 01 : Echographe Sonoscape A6 (photo personnelle).....	39
Photo 02 : Photomètre minitube SDM 1, étalonné pour les équidés et CASA (photopersonnelle).	41
Photo 03 : Région périnéale d'une jument, nettoyée, et séchée pour le prélèvement (photo personnelle).....	42
Photo 04 : Antibiogramme classique (photo personnelle).....	45
Photo 05 : Automate VITEK 2 COMPACT Biomérieux (photo personnelle).	46
Photo 06 : Colorant diff quick (photo personnelle).....	47
Photo 07 : Pince à biopsie utérine pour jument (photo personnelle).....	50
Photo 08 : Matériel de lavage utérin et infusion utérine avec l'antibiotique (photopersonnelle).	51
Photo 09 : Dilution du miel dans de l'eau physiologique (photo personnelle).	51

Liste des abréviations

PBIE : Post-breeding induced endometritis (Endométrite induite par la saillie).

P4 : Progestérone.

E2 : Estradiol.

PGF2 α : Prostaglandine F 2 α .

TBIE : Transient Breeding Induced Endometritis (Endométrite Transitoire Induite par la saillie).

FIU : Fluides Intra-Utérins

LIU : Liquides Intra-Utérins.

IUF : Intra-Uterine Fluids.

IA : Insémination Artificielle.

Hpf : High Power Field / Champ de haute puissance.

Ng/ml : Nanogramme/ millilitre.

MHZ : Méga hertz.

FNS : Formule Numération Sanguine.

Hb : Hémoglobine.

Ht : Hématocrite.

VGM : Volume Globulaire Moyen.

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

GR : Globule Rouge.

g/dl : Gramme/ Décilitre.

fL : Femtolitre.

Pg : Picogramme.

H et E : Hématoxyline et éosine.

CMI : Concentration Moyenne Inhibitrice.

BEA : Bile Esculine Agar.

BHIB : Bouillon Cœur-cervelle.

P1 : Prélèvement 01 (24 heures avant la saillie).

P2 : Prélèvement 02 (6h Post-saillie).

P3 : Prélèvement 03 (48h Post-saillie).

Table des Matières

Page de garde	
Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des graphs.....	IV
Liste des photos.....	V
Liste des abréviations	VI
Introduction.....	1

Chapitre I : Rappels anatomiques et histologiques de l'utérus de la jument

I-Anatomie de l'utérus de la jument	4
II-Structure histologique de l'utérus de la jument	5
A. L'endomètre	5
B. Le myomètre.....	6
C. Le perimetrium	7
III.Vaisseaux sanguins, lymphatiques et nerfs	7

Chapitre II : Les changements physiologiques durant le cycle œstral

I Mécanisme de la défense utérine.....	10
A. La sensibilité des juments à la PBIE	11
II Clairance mécanique	11
III. La réponse inflammatoire à la saillie / insémination.....	12
A. L'immunité innée	12
B. L'immunité adaptative	14

Chapitre III: Les moyens de diagnostic des PBIE

I. L'échographie transrectale.....	16
II. La cytologie endométriale	17
A. Les cellules épithéliales utérines	20
B. Les cellules inflammatoires (Neutrophiles, Macrophages, Eosinophiles, Lymphocytes)	21

Table des Matières

C. Les globules rouges	24
D. Bactéries, levures ou organismes fongiques	24
III. La microbiologie	25
IV. Le dosage de la progestérone	27
V. L'hématologie et la biochimie sanguine	28
VI. La biopsie utérine	29

Chapitre VI : Les différents moyens de traitement de la PBIE

I. Les agents ecboliques	31
II. Le lavage utérin.....	32
III. L'utilisation des antibiotiques	33
IV. Le traitement par le miel.....	35
A. Effet antibactérien	35
B. Effet anti-inflammatoire	35

Matériel et méthode

I. Echantillonnage	36
II. Lieu d'étude.....	36
A. Description des lieux	36
1. Bergerie de l'ISV	36
2. Haras El Mesk.....	37
III. Protocol expérimental	39
A. Protocol d'insémination artificielle avec semence fraîche.....	41
B. Méthode de prélèvement	41
1. La microbiologie	41
2. La cytologie endométriale.....	46
3. Le prélèvement sanguin	47
4. La biopsie utérine.....	48
C. Le traitement des juments.....	50

Résultats

I. Taux de gestation et fertilité	52
II. Examen échographique	53

Table des Matières

III.La microbiologie	56
A.Les germes présentes durant les phases de prélèvements	56
B.Les espèces isolées	57
C.Test de sensibilité aux antibiotiques et traitement.....	57
IV.La cytologie endométriale	59
V.Le dosage sanguin	62
A.Dosage de progestérone	62
B.Hématologie et biochimie	62
1.Les leucocytes	62
2.Les hématies.....	63
3.L'hémoglobine	64
4.L'hématocrite	64
5.Volume Globulaire Moyen (VGM)	65
6.Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH)	65
7.Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH)	66
8.Les plaquettes sanguines	66
9.Les neutrophiles	67
10.Les éosinophiles	67
11.Les basophiles	68
12.Les lymphocytes	68
13.Les monocytes.....	69
14.Les protéines totales.....	69
VI.La biopsie utérine	70
VII.Le traitement des juments par infusion utérine au miel	70
A.Résultats du traitement des juments par infusion au miel	71
Discussion	
<hr/>	
I.La relation des PBIE avec la conception et la fertilité	73
II. Les moyens de diagnostic de la PBIE	74
A.L'échographie	74
B.La cytologie endométriale	75
C.La microbiologie	77

Table des Matières

D.Le dosage sanguin	81
1.Dosage hormonal de la progestérone	81
2.Hématologie et la biochimie sanguine	82
E.La biopsie utérine	86
III.Le traitement alternatif au miel	87
Conclusion et recommandations.....	89
Références bibliographiques	92

Introduction

Chez les animaux de rente, la reproduction occupe une place très importante pour la réussite de l'élevage en particulier la filière équine qui ne fait exception d'où les professionnels de l'élevage équin ont toujours fixé l'objectif d'atteindre 1 poulain/jument/an, un impératif pour parler de la réussite de tout élevage équin de ce fait, le contrôle et la maîtrise du troupeau équin et notamment la gestion, la maîtrise du cycle, le contrôle de fertilité et fécondité sont des facteurs clé.

L'endométrite incriminée comme cause majeure d'infertilité est depuis longtemps reconnue comme étant une cause pathologique majeure de chute de la fertilité chez les juments. Les conséquences de cette affection sont non seulement médicales pour la jument mais aussi économiques pour son propriétaire.

C'est une infection ou une inflammation de l'endomètre. C'est la troisième maladie la plus répandue chez les juments, et la principale cause de subfertilité (**Traub-Dargatz et al., 1991 ; Troedsson, 1999**).

Auparavant, on pensait que l'endométrite était causée uniquement par une infection bactérienne ou fongique. Cependant, les recherches ont révélé la même réaction des neutrophiles lorsque la jument est saillie, ou exposée à une solution saline, ou carrément des bactéries (**Canisso et al., 2020**).

La réponse inflammatoire de l'utérus de la jument à la saillie nécessaire pour l'élimination de l'excès des spermatozoïdes et des bactéries contaminantes est considérée comme physiologique (**Troedsson, 2006**), où le dépôt de sperme intra-utérin pendant la saillie ou l'insémination artificielle (IA) induit une chimiotaxie rapide des cellules polymorphonucléaires (PMN) dans le tissu endométrial et la lumière utérine (**Katila, 2012**).

La disparition de cette inflammation dans un délai de 48h indique que la jument est en bonne santé reproductive « résistante » (**katila, 1996 ; Woodward and Troedsson, 2013**), tandis que si l'inflammation demeure au-delà de 72h la jument est nommée susceptible (**Troedsson, 1999**).

Un retard d'élimination de cette inflammation chez ces juments induit une endométrite désignée sous la nomination d'endométrite post-saillie (PBIE : Post-Breeding Induced Endometritis), qui est souvent associée à une rétention de liquides intra-utérins (**Troedsson and Liu, 1991 ; LeBlanc et al., 1994**).

L'embryon passe de la trompe utérine vers la lumière entre 144 et 168 heures après l'ovulation. Cela coïncide avec une production accrue de progestérone induisant une fermeture cervicale, ce qui laisse peu de temps à l'inflammation pour se résorber. Une persistance de neutrophilie et une accumulation excessive des liquides dans la lumière utérine, sont embryotoxiques et entraînent une diminution de la fertilité de la jument lors de la saillie naturelle ou insémination artificielle (**Canisso et al., 2020**).

Par conséquent, l'utérus n'est pas prêt pour l'admission du conceptus à 5-6 jours post-saillie chez les juments atteintes d'une PBIE (**Oguri and Tsutsumi, 1972**), permettant de réduire le taux de gestation

(Pycock and Newcombe, 1996 ; Barbacini et al., 2003).

L'éthiologie de l'endométrite post-saillie est multifactorielle, pouvant aller de facteurs physiques tels que l'âge ou la conformation périnéale, à une réaction exagérée de l'endomètre après la saillie. Des épisodes répétés d'endométrite aiguë vont induire une endométrite chronique. Elle peut être bactérienne suite aux problèmes physiques déjà cités, qui sont en relation avec l'efficacité du col de l'utérus qui joue un rôle de barrière à l'entrée des microorganismes (**Morrell and Rocha, 2022**).

Mais, on ne sait pas encore si les bactéries sont primaires ou secondaires à l'induction des pathologies de l'endomètre (**Morris et al., 2020**).

Les études sur les endométrites post-saillie chez la jument en Afrique sont limitées, par contre nous avons trouvé seulement des études publiées en Amérique et en Europe, faisant référence au sujet selon l'auteur. En effet, plusieurs recherches ont été effectuées en Europe et en Amérique.

Ainsi, nous n'avons trouvé aucune étude sur les PBIE chez la jument effectuée en Algérie, et pour pallier à ce manque nous présentons cette étude qui a pour objectif de faire un état des lieux en mettant au diapason la fréquence et l'importance de cette pathologie et son impact sur la fertilité chez la jument, pour se faire nous proposons l'approche suivante :

- Diagnostiquer les PBIE à temps afin d'éviter les endométrites chroniques.
- Identifier les facteurs de risque.
- Détecter l'inflammation par différents moyens tels que :

- Examen hématologique et biochimique.
- Examen échographique.
- Examen cytologique.
- Le dosage de P4.
- Examen microbiologique et antibiogramme.
- L'histopathologique.
- Proposition d'une conduite à tenir et des protocoles thérapeutiques.

Synthèse
bibliographique

I. Anatomie de l'utérus de la jument :

La position de l'appareil génital de la jument est horizontale, contrairement à la position verticale de l'appareil génital des primates. L'utérus de la jument a une structure bicornée, ou les deux cornes utérines sont reliées à un corps utérin commun. Il est suspendu dans le corps par le ligament large et reçoit le sang des artères utérines et ovariennes (**Pickett et al., 1993**).

Le mésométrium est une partie du ligament large qui maintient l'utérus, qui est libre par rapport au ligament large dans le côté ventral chez la jument, à l'opposé des vaches. Cela empêche l'utérus de se rétracter dans la cavité pelvienne lors de la palpation transrectale, ce qui rend la tâche plus compliquée. L'utérus de la jument n'est pas enroulé comme celui de la vache, ainsi le ligament intercornuel n'est pas proéminent, la bifurcation interne est marquée par un court septum utérin et le corps de l'utérus est plus long. La vascularisation est constituée de chaque côté de l'utérus de trois artères et veines : la branche de l'artère ovarienne et sa veine correspondante, la branche de l'artère utérine et sa veine correspondante, et finalement l'artère vaginale et sa veine correspondante. Une rupture de ces dernières est probable lors du part chez les juments âgées, conduisant à la formation d'hématomes dans le ligament large ou d'hémorragies abdominales fatales (**Brinsko et al., 2011**).

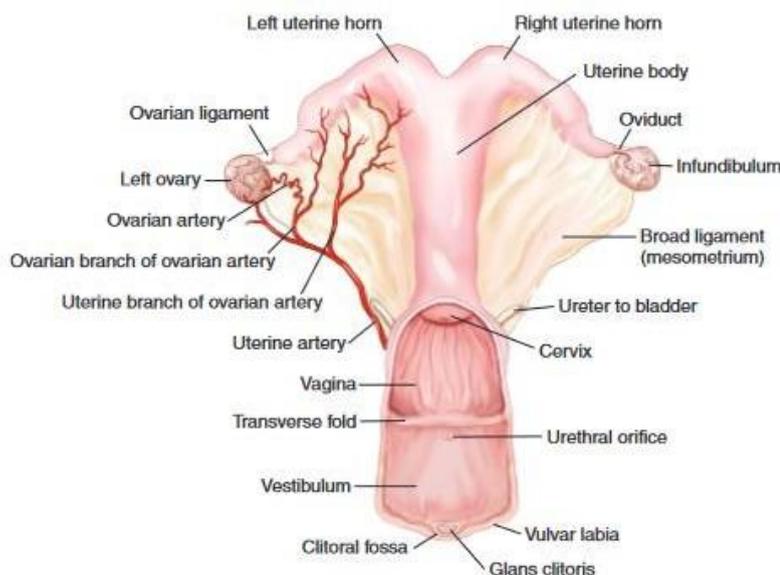


Figure 01 : Vue dorsale de l'appareil reproducteur de la jument (**Brinsko et al., 2011**).

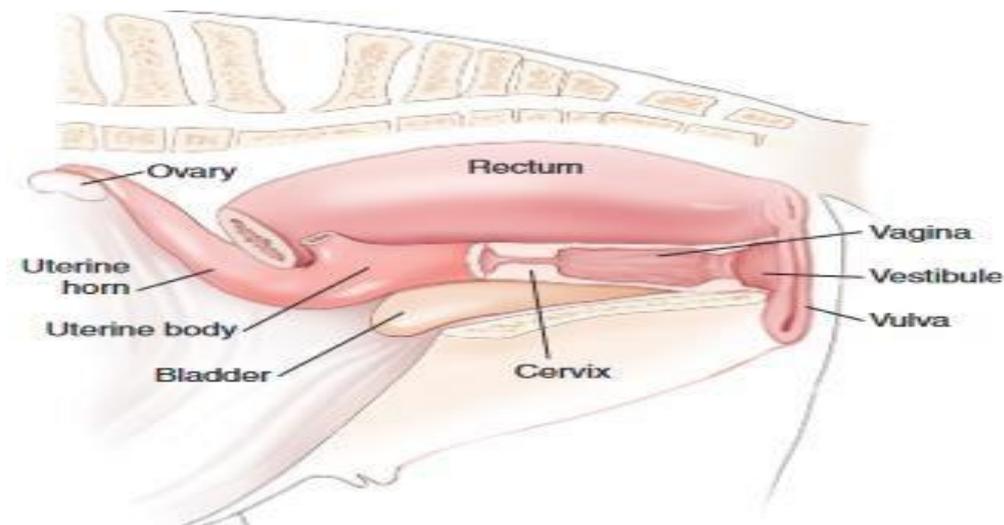


Figure 02 : Vue latérale de l'appareil reproducteur de la jument et des structures adjacentes (Brinsko et al., 2011).

L'utérus est protégé de l'environnement extérieur par trois barrières physiques ; la première barrière la plus externe est la vulve. Chez une jument normale les lèvres vulvaires se ferment complètement. La deuxième barrière est le pli transversal qui se situe entre le vagin et le vestibule proprement dit, empêchant l'urine de pénétrer dans l'appareil génital supérieur. La barrière la plus interne protégeant l'utérus est le col utérin, qui à son tour sépare le vagin de l'utérus (Pickett et al., 1993).

II. Structure histologique de l'utérus de la jument :

La paroi utérine est constituée de trois couches :

- La muqueuse-sous-muqueuse ou endomètre.
- La musculuse ou myomètre.
- La séreuse ou périmétrium.

Le périmétrium, la couche longitudinale du myomètre et la couche vasculaire du myomètre sont tous en continuité avec les structures correspondantes du ligament large de l'utérus (Eurell and Frappier, 2013).

A. L'endomètre :

L'endomètre est composé de deux zones qui diffèrent par leur structure et leur fonction.

- **La couche superficielle**, appelée zone fonctionnelle, dégénère partiellement ou totalement après la gestation ou après l'œstrus.
- **Une fine couche profonde**, la zone basale, persiste après ces événements, et la zone fonctionnelle est restaurée à partir de cette couche.

L'épithélium de surface de la zone fonctionnelle est colonnaire simple chez la jument. Dans les zones isolées, l'épithélium peut être cuboïdal simple.

La hauteur et la structure des cellules épithéliales sont liées à la sécrétion des hormones ovariennes tout au long du cycle.

La partie sous-épithéliale et superficielle de la zone fonctionnelle est constituée d'un tissu conjonctif lâche, richement vascularisé, avec de nombreux fibrocytes, macrophages et mastocytes. Des neutrophiles, des éosinophiles, des lymphocytes et des plasmocytes sont également présents.

La partie profonde de la zone fonctionnelle est constituée de tissu conjonctif lâche, moins cellulaire que celui de la partie superficielle.

Des glandes tubulaires simples, enroulées et ramifiées sont présentes dans tout l'endomètre. L'épithélium glandulaire colonnaire simple comprend des cellules ciliées sécrétoires et non sécrétoires.

L'augmentation des taux d'œstrogènes stimule la croissance et la ramification des glandes, mais l'enroulement et une sécrétion abondante des glandes ne se produisent généralement pas avant la stimulation par la progestérone. La ramification et l'enroulement des glandes sont importants chez les juments. Les cupules endométriales apparaissent chez les juments en début de gestation après l'invasion de l'endomètre par les cellules fœtales (**Eurell and Frappier, 2013**).

B. Le myomètre :

Le myomètre est constitué d'une couche interne épaisse, essentiellement circulaire, et d'une couche externe longitudinale de cellules musculaires lisses dont le nombre et la taille augmentent pendant la grossesse. Entre les deux couches, ou à l'intérieur de la couche interne, se trouve une couche vasculaire (stratum vasculare) (**Eurell and Frappier, 2013**).

C. Le perimetrium :

Le périmetrium est constitué de tissu conjonctif lâche recouvert par le mésothélium péritonéal. Des cellules musculaires lisses sont présentes dans le périmetrium. De nombreux vaisseaux lymphatiques et sanguins et des fibres nerveuses sont présents dans cette couche **(Eurell and Frappier, 2013)**.

III. Vaisseaux sanguins, lymphatiques et nerfs :

Entre les couches interne et externe du myomètre, ou profondément dans la couche interne, se trouve une couche vasculaire constituée de grosses artères, de veines et de vaisseaux lymphatiques qui alimentent l'endomètre.

De nombreux vaisseaux lymphatiques et sanguins ainsi que des fibres nerveuses sont présents dans le périmetrium.

Les nerfs proviennent principalement du système sympathique par l'intermédiaire des plexus utérins et pelviens. Ils se ramifient dans toutes les tuniques. L'alimentation parasympathique provenant des segments sacrés de la moelle épinière atteint l'utérus par le plexus pelvien **(Eurell and Frappier, 2013)**.

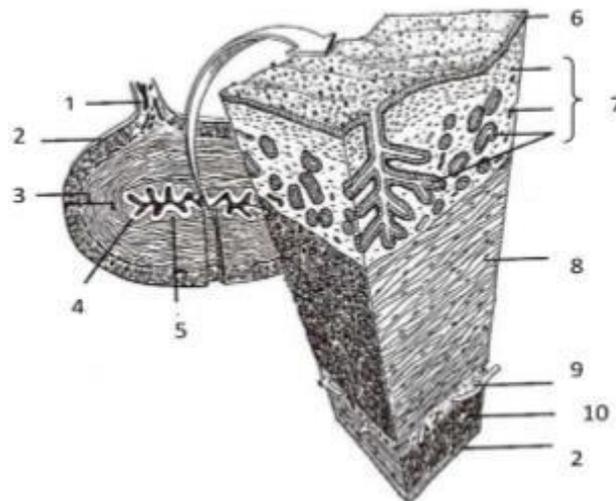


Figure 03 : Coupe de corne utérine de la jument **(Kainer, 1993)**.

1. Mésométrium ; 2. Périmétrium ; 3. Myomètre ; 4. Endomètre ; 5. Tissu conjonctif ; 6. Surface de l'épithélium ; 7. Endomètre et glandes endométriales ; 8. Couche superficielle du myomètre ; 9. Couche moyenne ; 10. Couche profonde.

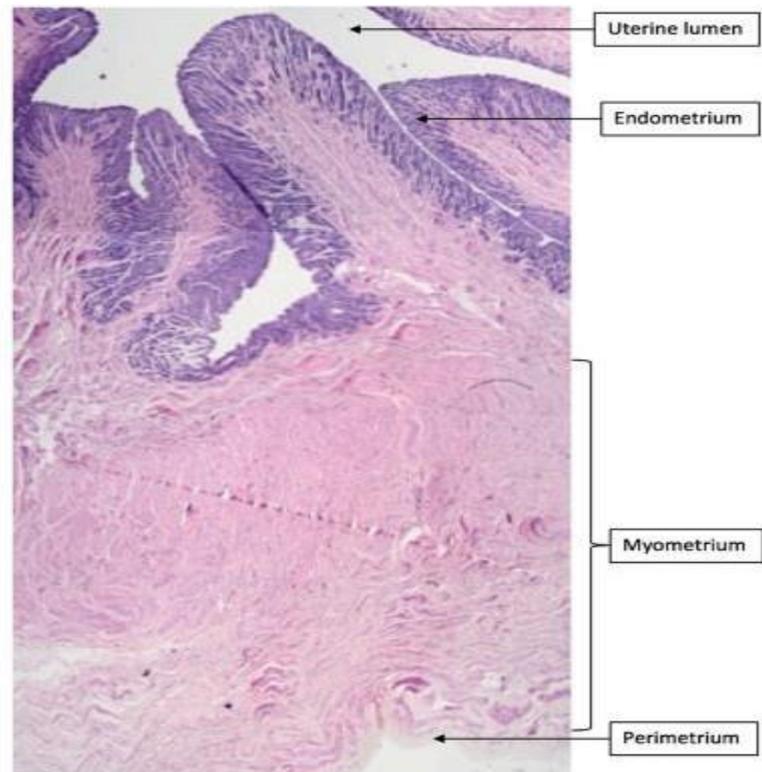


Figure 04 : Coupe histologique d'un utérus d'une jument (Thompson et al., 2020).

La fonction du col utérin est reliée aussi aux hormones sexuelles, pendant le dioestrus et la gestation, la progestérone agit sur le col en le fermant hermétiquement et produit un mucus. Alors que lors d'œstrus les œstrogènes ramollissent l'utérus et l'ouvrent pour permettre l'accouplement et l'entrée des spermatozoïdes (**Pickett et al., 1993**).

Avant la mise bas la prostaglandine E2 est impliquée dans la maturation cervicale, mais peut être administrée d'une façon exogène chez les juments en cyclicité pour assouplir le col utérin (**Rigby et al., 1998**).

En addition des modifications ultra-structurales de l'endomètre durant le cycle œstral, il existe une variation dans l'abondance des récepteurs de progestérone et d'œstrogènes dans l'endomètre durant les différents stades du cycle œstral. Ces récepteurs sont trouvés dans le stroma, l'épithélium luminal et l'épithélium glandulaire, ils augmentent durant l'œstrus et diminuent pendant le dioestrus. (**Thompson et al., 2020**).

Bien qu'une autre étude ait montré des résultats qui indiquent que l'abondance des récepteurs de progestérone n'est pas démontrée lorsqu'on compare entre les deux phases (œstrus et dioestrus) (**Silva et al., 2014**).

Alors qu'une coloration nucléaire dense dans les trois types de cellules endométriales les jours avant l'ovulation est indiquée dans les résultats des études d'immunomarquage des récepteurs de progestérone et d'œstrogènes, le jour de l'ovulation l'abondance stromale des récepteurs reste plus importante et diminue après durant le dioestrus (**Hartt et al., 2005**). L'évaluation de l'abondance des récepteurs des œstrogènes et de la progestérone au cours du cycle œstral justifie donc une évaluation de chaque type de cellule de l'endomètre.

L'ocytocine est sécrétée par l'hypophyse postérieure (**Vanderwall et al., 1998**), ainsi que par les cellules épithéliales glandulaires luminales et superficielles de l'endomètre vers le 14^e jour post ovulation (**Bae and Watson, 2003**).

Les fonctions de l'ocytocine chez les juments sont autocrines ou paracrines (**Stout et al., 2000**), qui est le contraire avec les autres espèces domestiques où la principale source de l'ocytocine est le corps jaune plutôt que l'endomètre. Dans les épithéliums luminaires et glandulaires de l'endomètre la coloration immunohistochimique est positive ce qui signifie que l'ocytocine est produite par les mêmes cellules que celles où les récepteurs de l'ocytocine sont présents (**Annandale et al., 2018**).

Les récepteurs où se fixe l'ocytocine sont plus abondants chez les juments vides que chez les juments gestantes (Sharp et al., 1997), induisant une sécrétion épisodique de prostaglandine F_{2α} (PGF_{2α}) (Santos et al., 2015), par les cellules de l'endomètre (cellules épithéliales et stromales) (Sz'ostek et al., 2012).

Les précédentes études ont indiqué que la sécrétion et la libération de PGF_{2α} augmente car sa production dans l'endomètre s'amplifie (auto-amplification) (Kozai et al., 2016). Ensuite cette dernière est sécrétée de façon systémique (Thompson et al., 2020), ce qui engendre la lutéolyse (Santos et al., 2015).

Le signal venant de l'embryon ne laisse pas la lutéolyse avoir lieu, même si cela n'est pas encore totalement élucidé, mais ce dernier entraîne une diminution de la réactivité à l'ocytocine (Sharp et al., 1997 ; Starbuck et al., 1998).

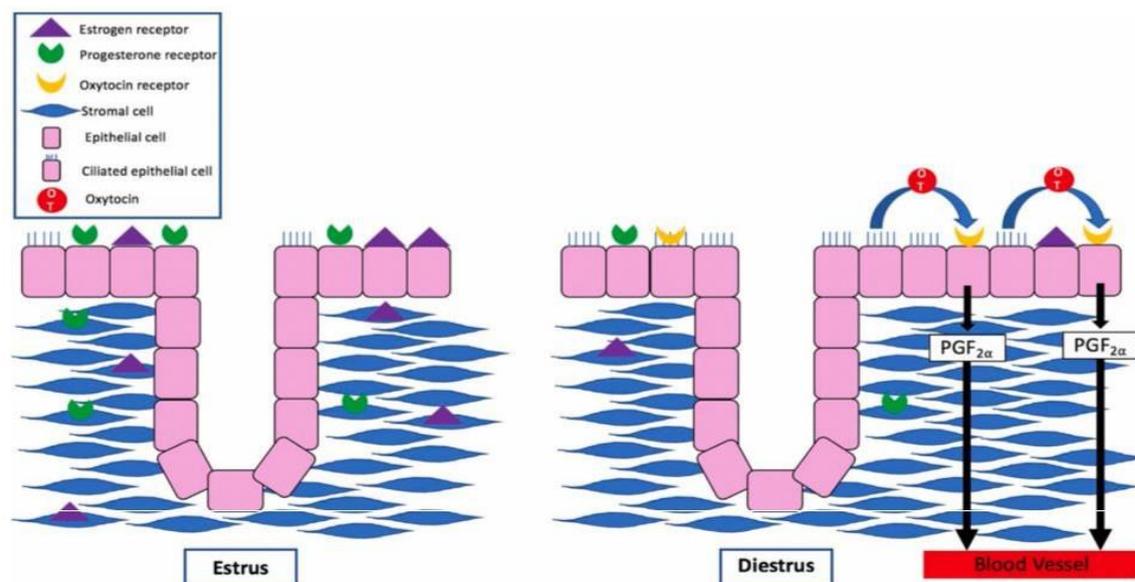


Figure 05 : Représentation de l'endomètre pendant l'œstrus et au moment de la lutéolyse pendant le diœstrus (Thompson et al., 2020).

I. Mécanisme de la défense utérine :

A. La sensibilité des juments à la PBIE :

La réaction inflammatoire de l'endomètre de la jument est reconnue comme une réponse physiologique obligatoire pour débarrasser l'utérus des bactéries contaminantes et l'excès de spermatozoïdes (Lüttgenau et al., 2021).

Ce processus est également nommé : endométrite transitoire induite par la saillie ou l'insémination artificielle (TBIE : Transient Breeding Induced Endometritis), se produit chez chaque jument et doit être considéré comme un mécanisme inné de défense immunitaire. Il est important de résoudre la TBIE avant l'arrivée de l'embryon dans l'utérus. Les juments fertiles peuvent résoudre avec succès la vidange utérine dans les 48h après la saillie, préparant ainsi un environnement adéquat pour le conceptus. **(Scarlet et al., 2023)**.

Chez les juments sensibles à l'endométrite post-saillie PBIE, ce processus est perturbé et se manifeste cliniquement par une accumulation de liquide intra-utérin (LIU). La présence de liquide intra-utérin 24 heures et plus après la saillie est négativement reliée à la fertilité **(Wojtysiak et al., 2020)**. Chez ces juments sensibles l'inflammation persiste au-delà de 72 heures **(Troedsson, 1999)**.

Les facteurs de risque associés à l'accumulation des FIU sont les suivants : âge avancé de la jument, le nombre de parités, mauvaise conformation périnéale, infection de l'utérus, position de l'utérus dans la cavité abdominale, altération de la fonction cervicale, rétention excessive de liquides pendant l'œstrus et scores IIB et III de la biopsie utérine **(Katila, 2012 ; Troedsson, 1999 ; LeBlanc et al., 1994 ; Brinsko et al., 2003 ; Bucca et al., 2008 ; Woodward et al., 2012 ; Woodward and Troedsson, 2013 ; Christo_ersen et al., 2015)**.

II. Clairance mécanique :

Chez les juments résistantes, il est considéré qu'il y'a une hausse de l'activité myoélectrique après l'entrée des bactéries dans l'utérus, ce qui indique une augmentation des contractions utérines. Cependant, chez les juments sensibles, cette dernière a été retardée de 2 heures. En outre, les juments sensibles ont connu une forte baisse de l'activité, tombant en dessous des niveaux de base 12 heures après la provocation, ce qui cause un relâchement du myomètre **(Woodward and Troedsson, 2015)**.

Dans une autre étude pour étudier le retard de la clairance utérine en utilisant le radio-colloïde, les chercheurs ont noté que les juments sensibles retenaient ce dernier 2 heures de plus après la perfusion que les juments résistantes **(LeBlanc et al., 1994)**.

Les auteurs de ces deux études ont confirmé que le manque de contractilité myométriale pourrait être un facteur majeur dans la pathogenèse de la PBIE. L'un des facteurs pouvant provoquer l'altération de la fonction myométriale est l'oxyde nitrique (NO), qui est

produit en excès par la synthèse inductible de l'oxyde nitrique (iNOS), au cours de l'inflammation (**Rosselli et al., 1998 ; saxena et al., 2000 ; Tripathi, 2007 ; Li et al., 2010 ; Brinsko et al., 2003 ; Riddle et al., 2007**).

En présence de NO qui est un relaxant des muscles lisses, le tissu myométrial in-vitro était incapable de répondre à un stimulus électrique (**Liu et al., 1997**).

Des études examinant la relation entre le NO et l'iNOS sur la sensibilité des juments à la PBIE, ont prouvé que les juments sensibles ont une accumulation accrue de NO au niveau utérin (**Alghamdi et al., 2005 ; Woodward et al., 2013**), et une expression endométriale accrue de l'ARNm de la iNOS (**Alghamdi et al., 2005**), après l'insémination. Ces données aident à expliquer les mécanismes potentiels du retard de la clairance utérine.

III. La réponse inflammatoire à la saillie / insémination :

Le système immunitaire de la muqueuse de l'appareil génital comprend deux types :

- L'immunité adaptative qui répond de manière sélective et progressive à la détection des antigènes par les lymphocytes T (**Lieberman, 2003**).
- L'immunité innée, en revanche dicte la réponse à la reproduction (**Marth et al., 2018 ; Nash et al., 2010**), qui est spécifique, rapide et transitoire (**Muraille and Goriely, 2017**).

A. L'immunité innée :

Lors d'une inflammation, lésion tissulaire, et aussi une infection, la réponse immunitaire innée est principale à l'activation des récepteurs de reconnaissance des pathogènes (Pathogen Recognition Receptors : PRR) (**Kawai, T and Akira, 2010**). Qui est achevée principalement par macrophages, les PMN, et les cellules dendritiques (**Kawai, and Akira, 2010**), mais des études ont montré que les cellules épithéliales et stromales de l'endomètre sont aussi impliquées dans la réponse immunitaire innée (**Cronin et al., 2012 ; Davies et al., 2008 ; Herath et al., 2006 ; Marth et al., 2015; Silva et al., 2010**).

La réponse inflammatoire de l'utérus au sperme joue un rôle prépondérant dans l'élimination de l'excès des spermatozoïdes et les autres éléments de l'éjaculat tout en rétablissant la lumière utérine et la rendant stérile après la saillie ; qui suite à celle-ci s'introduisent les différents micro-organismes. Une libération des cytokines pro-

inflammatoires IL-1 β , TNF- α , IL-6 et de la chimiokine IL-8 caractérise la réponse pro-inflammatoire (Fumuso et al., 2003 ; Palm et al., 2008 ; Woodward et al., 2013b). La réaction rapide de l'endomètre à la stimulation antigénique en libérant des médiateurs chimiotactiques tels que les PMN, entraînant une migration transépithéliale rapide des PMN dans la lumière utérine (Pycock and Allen, 1988).

En réponse au sperme les PMN sont rapidement recrutées dans les 30 minutes à partir de la circulation systémique et dans la lumière utérine, avec un pic de concentration après 4 à 6 heures, la plupart des PMN sont éliminées suite à la résolution de l'inflammation dans les 24 à 36 heures (Katila, 1995 ; Troedsson, 1999). Une libération de PGF-2 α sera entraînée suite à l'activation des PMN tout en entraînant une deuxième vague de contractions myométriales ce qui facilite la libération physique de l'utérus (Troedsson et al., 1995).

L'activité bactéricide et phagocytaire des PMN dépend du complément (C3b) et des IgG (Asbury et al., 1984 ; Asbury et al., 1980 ; Troedsson and Thurmond, 1993b ; Watson et al., 1987 ; Watson et al., 1987), des concentrations réduites sont présentées par les juments sensibles comparant aux juments résistantes ce qui pourrait refléter une opsonisation dysfonctionnelle (Troedsson et al., 1993b).

Le rôle des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-4, IL-13, et l'antagoniste du récepteur de l'IL-1(IL-1RN)) est de moduler l'inflammation. L'équilibre entre les effets pro- et anti-inflammatoires est maintenu par l'IL- 1RN, qui entre en compétition avec l'IL- 1 pour se lier aux récepteurs de l'IL- 1 et empêche la liaison de l'IL- 1 α et de l'IL- 1 β . La synthèse de IL-10 est tardive dans la réponse inflammatoire agissant comme un effecteur anti-inflammatoire généralisé tout en réduisant la transcription des cytokines pro-inflammatoires par les monocytes et les macrophages. Dans la réponse immunitaire innée Le facteur de croissance transformant β (TGF- β) et l'interféron γ (IFN- γ) participent également et jouent un rôle dans la modulation de l'inflammation et la régulation de l'augmentation de de l'iNOS respectivement (Christoffersen and Troedsson, 2017).

Le plasma séminale a un rôle de protection, de nutrition, de véhicule, de transport, et de régulation de la capacitation des spermatozoïdes et de la réaction acrosomique, en plus de ce rôle ce dernier joue un rôle très important dans la modulation de l'inflammation induite par la saillie (Robertson, 2007). plasma séminale favorise la liaison entre les spermatozoïdes non viables et les PMN, tout en protégeant les spermatozoïdes viables (Troedsson et al., 2005).

Ces chercheurs ont prouvé que la CRISP-3 (Cysteine- Rich Secretory Protein-3) qui se trouve dans le plasma séminal la liaison entre les PMN et les spermatozoïdes vivants et régule l'élimination du sperme (**Doty et al., 2011**).

6 heures après la saillie a été identifié par des études récentes comme un moment crucial pour le développement de la PBIE (**Woodward et al., 2013b**). Chez toutes les juments résistantes ou sensibles, une hausse de l'expression des cytokines a été observé dans les 3 à 6 heures suivant la saillie, sauf que chez les juments résistantes c'est l'expression des cytokines modulatrices de l'inflammation (IL-1RN, IL-10, et IL-6) qui augmente 6 heures après l'insémination comparant aux juments sensibles, ce qui insinue un rôle capital dans la modulation de l'inflammation suite à la PBIE à ce stade précoce. La réponse cytokinique à l'endométrite bactérienne est bien différente de celle qui est induite par la saillie. L'expression génique endométriale des cytokines pro-inflammatoires IL-6 et TNF- α est significativement plus élevée et immédiate après l'inoculation avec E. coli chez les juments résistantes (3 heures) par rapport aux juments sensibles (**Christoffersen et al., 2012**). Ce qui suggère à nouveau que la modulation de la réponse inflammatoire atteint son apogée tôt pour résoudre l'inflammation. Une augmentation prolongée (72h après le test) de l'expression des IL-1 β , IL-8 et IL-1RN, en raison d'une inflammation ou une infection en cours chez les juments sensibles (**Christoffersen et al., 2012**).

Dernièrement, il a été démontré que les protéines du plasma séminal peuvent moduler la réponse immunitaire innée à la saillie chez les juments sensibles par une régulation à la hausse de l'expression génique endométriale d'IL-8 et d'IL-1 β . La lactoferrine qui est la protéine du plasma séminal a provoqué une diminution du TNF- α donc une modification de la réponse pro-inflammatoire chez ces juments sensibles (**Fedorka et al., 2016**). Chose qui n'est pas observée chez les juments résistantes (**Fedorka et al., 2017**). La lactoferrine, ou une protéine associée à la lactoferrine, joue un rôle capital dans la réponse inflammatoire utérine après la saillie en augmentant la phagocytose des spermatozoïdes non viables par les PMN (**Troedsson et al., 2014**).

B. L'immunité adaptative :

A partir des sécrétions utérines de la jument, plusieurs classes d'immunoglobulines ont été isolées notamment les igA, igG, et les igM (**Asbury et al., 1980 ; Mitchell et al., 1982 ; Troedsson et al., 1993b ; Widders et al., 1984 ; Williamson et al., 1983**).

Les anticorps qui médient le mécanisme de défense utérine jouent un rôle dans l'élimination efficace des agents pathogènes de l'utérus. Pour assurer l'efficacité de la réponse immunitaire face aux pathogènes, il faut que les cellules présentatrices d'antigènes exposent les antigènes des pathogènes aux lymphocytes T.

L'endomètre de la jument est habité de lymphocytes T (Watson and Dixon, 1993 ; Watson and Thomson, 1996), avec une prédominance des cellules CD4+ et CD8+ dans le stratum compactum par rapport au stratum spongiosum (Watson and Thomson, 1996). En réponse au sperme le nombre des cellules CD4+ et CD8+ augmente (Tunón et al., 2000), et aux pathogènes (Watson and Thomson, 1996), ce qui suggère le début d'une réponse immunitaire adaptative à la suite d'une stimulation de la muqueuse endométriale. Aucune étude n'a prouvé l'existence de perturbation ou de déficience immunitaire cellulaire chez les juments susceptibles à la PBIE.

Dans les conditions in vitro les PMN utérins obtenus chez les juments sensibles pendant le dioestrus et l'anoestrus auraient une fonctionnalité réduite par rapports aux PMN obtenus chez les juments résistantes (Cheung et al., 1985 ; Liu et al., 1986 ; Watson et al., 1987 ; Watson, E. D et al., 1987).

D'autres études ont pu démontrer la pleine fonctionnalité des PMN des juments sensibles, suggérant une opsonisation dysfonctionnelle due à une diminution des niveaux de fragments de complément dans le liquide utérin (Asbury and Hansen, 1987 ; Troedsson et al., 1993a).

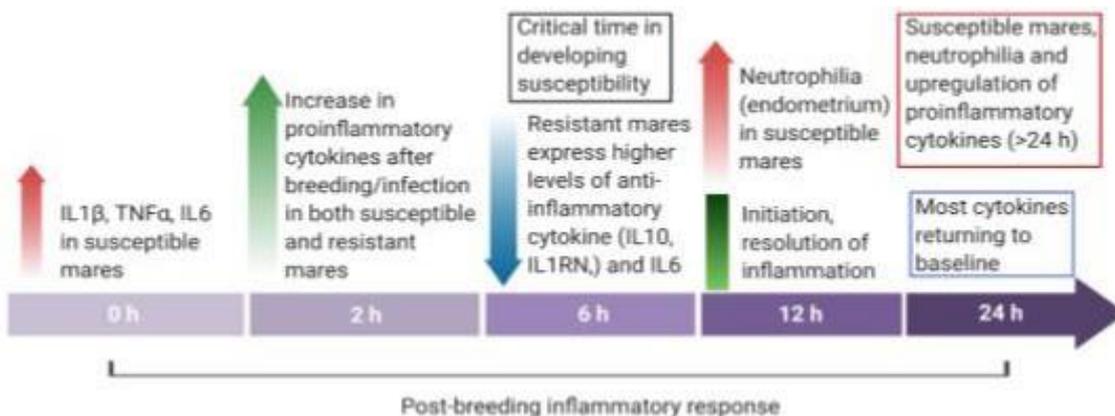


Figure 06 : Aperçu de la dynamique des cytokines endométriales chez les juments résistantes et sensibles à l'endométrite, immédiatement avant (0 heure) et 24 heures après la mise à la reproduction (Canisso et al., 2020).

I. L'échographie transrectale :

Pour l'examen gynécologique de routine de la jument, l'échographie reste un élément essentiel. Cette technique a permis de mieux faire la différence ce qui est physiologique de ce qui est pathologique, et a donné aux cliniciens et aux chercheurs un outil pour examiner l'utérus et les ovaires de manière non invasive. A fur et à mesure que les appareils échographiques deviennent plus sophistiqués et portatifs, nos connaissances continueront à croître et à se développer. Il est essentiel de faire un examen rectal en premier, ce qui nous permet d'éliminer toutes les matières fécales, et nous facilite la localisation de l'appareil reproducteur de la jument pendant l'examen, et fournit des informations sur la texture des structures (McKinnon et al., 2011).

L'accumulation du liquide utérin durant la période ovulatoire est toujours associée à une baisse du taux de gestation (McKinnon et al., 1988 ; Pycock and Newcombe, 1996 ; Barbacini et al., 2003), Les différences entre les juments résistantes et les juments sensibles peuvent être identifiées lorsque l'utérus de la jument est évalué 6-12 heures après la saillie (Troedsson, 1997 ; Bucca et al., 2008). Cependant, pas toutes les endométrites subcliniques accumulent du liquide pendant l'œstrus ou après la monte. Certaines peuvent présenter des schémas d'œdème anormaux, tels qu'un œdème excessif avant ou après la saillie, un œdème qui ne s'étend pas à l'ensemble de la paroi utérine (Samper, 2009), Ou peuvent présenter des lignes hyperéchogènes courtes et épaisses dans l'utérus signifiant soit de l'air, soit de l'exsudat (LeBlanc and Causey, 2009).

Les juments sensibles à la PBIE peuvent avoir des antécédents d'accumulation de liquide intra-utérin avant et après la saillie (figure 8), des pertes embryonnaires récurrentes, un retour précoce à l'œstrus, un échec de la gestation malgré une bonne gestion de l'élevage, et la présence d'écoulements vulvaires (Canisso et al., 2020).

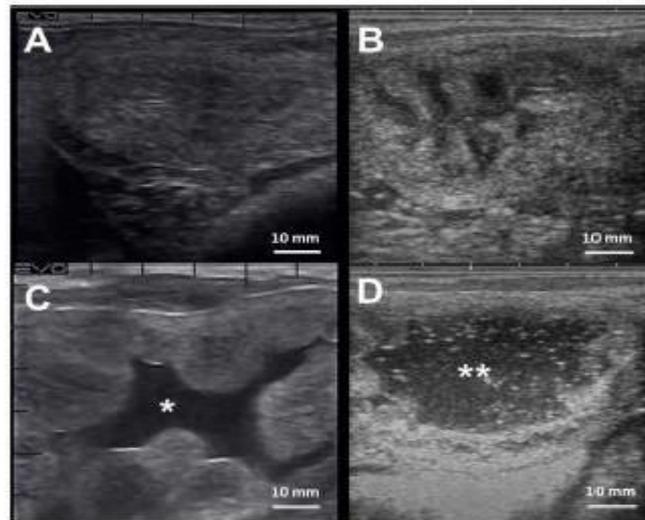


Figure 07 : Images échographiques en coupe des cornes utérines chez la jument :

(A) Image de l'utérus équin sans œdème endométrial ou accumulation de liquide intraluminal, typiquement observés chez les juments pendant le dioestrus.

(B) la corne utérine d'une jument en œstrus, caractérisée par la présence d'un œdème dans les vaisseaux lymphatiques qui entourent la sous-muqueuse de l'endomètre donnant l'aspect de "tranche d'orange",

(C) Œdème exacerbé de l'endomètre avec extravasation et accumulation de liquide intraluminal (*) chez une jument atteinte d'endométrite.

(D) accumulation étendue de liquide intraluminal hyperéchogène (***) chez une jument atteinte d'endométrite. Barres d'échelle 10 mm (A-D) (Canisso et al., 2020).

II. La cytologie endométriale :

La cytologie est le domaine qui utilise le plus petit échantillon de tissu possible pour le diagnostic, en réduisant autant que possible les critères au niveau cellulaire (Fischer, 2014).

La cytologie utérine est sollicitée lors d'un examen de routine de la santé reproductive, de la saillie, ou en cas d'infertilité. L'évaluation de l'endomètre est pour détecter les signes d'infection à la cytologie, tandis que l'histologie est nécessaire pour la classification qui contient les changements dégénératifs comme la fibrose (Sharkey et al., 2020).

Il y'a plusieurs techniques de cytologie pour l'évaluation de l'endomètre qui comprennent des frottis de biopsie endométriale, le brossage, les écouvillons, et le lavage trans-cervical utérin. Le choix de la technique dépend éventuellement de l'espèce, des circonstances, ainsi que le milieu clinique ou le terrain. Par exemple, chez les bovins il est

préférable de faire le lavage utérin, alors que chez les chevaux, chiens, et chats les écouvillons sont plus courants. Par contre chez les camélidés toutes les techniques sont validées, bien que le lavage utérin soit plus préféré (**Tibary, and Anouassi, 2001**). L'aspiration est généralement limitée à l'évaluation des tumeurs utérines présumées. L'échantillonnage chez les femelles gestantes est évité.

Le lavage utérin représente encore mieux les conditions utérines permettant d'obtenir de grands nids endométriaux cohésifs car une plus grande surface est échantillonnée (**Groppetti et al., 2010 ; Katila, 2016**). Comparant à la cytobrosse ou à l'écouvillonnage, qui nécessitent plus de temps et d'effort pour effectuer un échantillon cytologique, ainsi que l'aspiration pendant le lavage peut entraîner un effondrement de l'utérus et une diminution de la cellularité (**Groppetti et al., 2010 ; Ferris, 2016**).

Sur le terrain, les écouvillons sont plus faciles à utiliser mais peuvent engendrer une distorsion cellulaire plus importante que le brossage (**Ferris, 2016 ; Bohn et al., 2014**). Il faut toujours réaliser une échographie transrectale ou trans-abdominale d'abord quelle que soit la technique de prélèvement dont le but de détecter le liquide intra-utérin qui a été associé à la présence de bactéries pathogènes et de cellules inflammatoires (**Sharkey et al., 2020**). L'échographie permet y compris une évaluation de l'épaisseur endométriale, la fibrose et les kystes utérins.

La zone périnéale doit être strictement nettoyée avec utilisation d'un matériel stérile pour prévenir les infections et garantir une culture précise (**Tibary and Anouassi, 2001**).

Pour diminuer la contamination par les lubrifiants et maintenir la stérilité il est recommandé d'utiliser des écouvillons et des brosses à double protection (**Katila, 2016 ; Melcher et al., 2014**). Suite à l'introduction de la brosse ou de l'écouvillon dans l'utérus, l'extrémité de l'un des deux est poussée vers l'avant et ensuite roulée contre les parois utérines pendant environ 15 jusqu'à 60 secondes avant d'être rétractée dans la double gaine de protection (**Ferris, 2016; Ball et al., 1988 ; Walter et al., 2012 ; Card, 2005**). Pour éviter que l'échantillon ne soit contaminé par le gel ultrasonore, les lames doivent être déjà préparées avec des mains dégantées et propres ou bien confiées à un technicien pour la préparation. L'utilisation de lames stériles est conseillée pour que les écouvillons puissent être mis dans des milieux de transport pour la culture après la préparation de l'échantillon cytologique. Les écouvillons et les échantillons de cytobrosse doivent être délicatement roulés sur les lames sans se chevaucher (**Sharkey et al., 2020**).



Figure 08 : Brosse cytologique « cytobrosse » (Walton et al., 2021).

Les lames sont colorées à l'aide des colorations traditionnelles de Wright-Giemsa ou de colorations rapides comme DiffQuik® (Katila, 2016 ; Pascottini et al., 2015).

Il n'y a pas de consensus sur l'approche à adopter pour l'évaluation des lames. Les deux méthodes de base pour évaluer l'inflammation consistent à comparer 100, 200 ou 300 cellules nucléées à un grossissement de 400 (objectif 40) ou à évaluer toutes les cellules nucléées dans 10 champs à un grossissement de 1000 (Katila, 2016 ; de Agustín et al., 1999; Masmiquel et al., 1993).

Lors de l'évaluation de la cytologie endométriale, le nombre de cellules récupérées doit être suffisant, cela indique que l'échantillon est de qualité diagnostique. Une nouvelle lame peut être réalisée si le nombre de cellules est faible. Au cas de persistance du problème, un nouvel échantillon doit être prélevé. De même, la présence d'agrégats cellulaires, de matières étrangères (mucus) ou de matériaux (matières fécales, cheveux, fibres de coton). Enfin la qualité de la coloration doit être prise en considération. Lorsque la coloration est trop faible, la préparation d'un nouveau frottis ainsi que sa coloration sont faites. L'approche de la cytologie est généralement à 100× (objectif 10× × oculaire 10×). Si l'échantillon est de qualité diagnostique, une évaluation de la lame dans un champ à haute puissance (400×) aura lieu. Ensuite, l'échantillon cytologique coloré est examiné pour la présence et l'apparence des différentes associations cellulaires, qui sont généralement des cellules épithéliales utérines (cellules endométriales), des cellules inflammatoires (neutrophiles, macrophages, éosinophiles, lymphocytes), des globules rouges (GR), des bactéries, des levures ou des organismes fongiques, et des débris (Walton et al., 2021).

A. Les cellules épithéliales utérines :

L'observation de ce type de cellules est le plus souvent lors de l'examen des frottis normaux de cytologie endométriale. Pendant que la jument est en cycle ou non, la forme de ces cellules varie de cellules épithéliales colonnaires chez la jument cyclique (figure 02 et 03) à des cellules cuboïdales lorsque cette dernière est en anœstrus (**Roszel and Freeman, 1988**).

Pendant que la jument est en cyclicité, les cellules obtenues dans la cytologie endométriale ont un noyau uniformément coloré, situé dans la partie basale du cytoplasme, tandis que lors d'anœstrus les noyaux sont hypochromatiques. D'autres changements normaux associés à la cyclicité comprennent l'apparition de petites vacuoles dans le cytoplasme (**Roszel and Freeman, 1988 ; Slusher et al., 1985**). Généralement, les cellules épithéliales utérines ne sont pas ciliées, mais ceci n'empêche pas de trouver des cellules avec des cils chez les juments normales (Figure 11) (**Walton et al., 2021**).

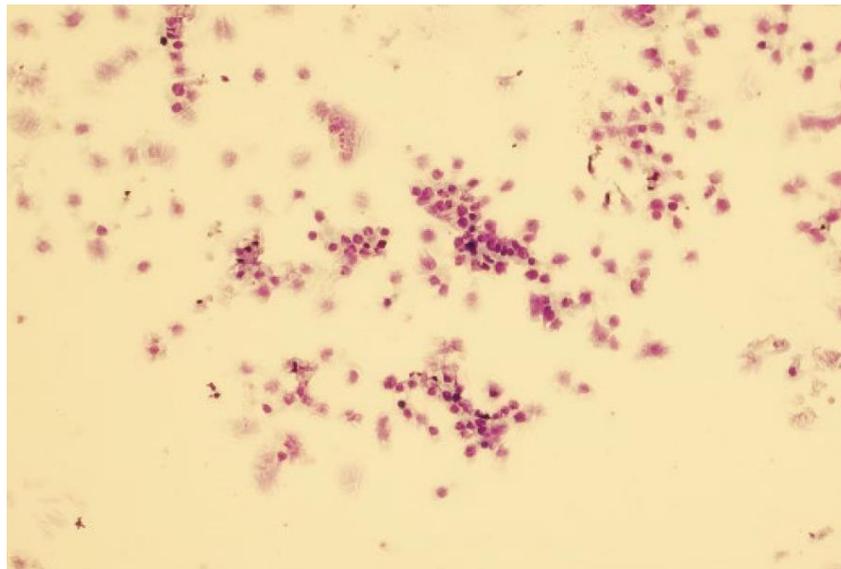


Figure 09 : Cellules épithéliales utérines normales (cellules endométriales). Diff-Quik, grossissement original 100× (**Walton et al., 2021**).

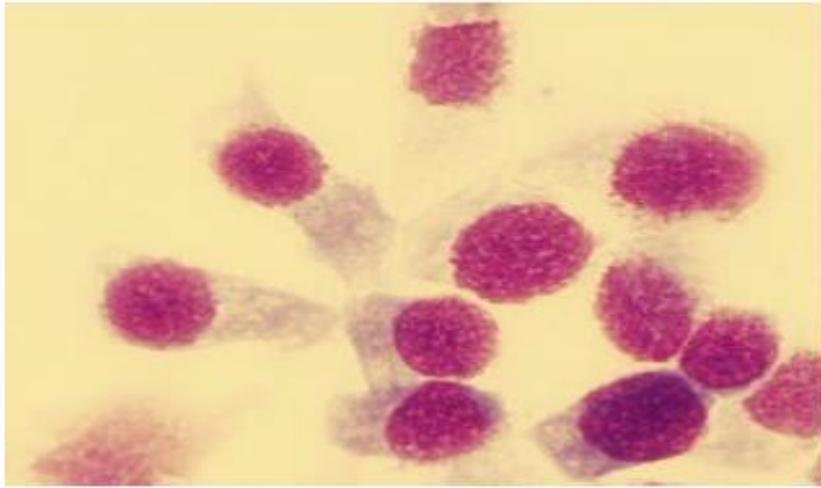


Figure 10 : Cellules endométriales provenant du même échantillon cytologique de la figure 09. Formation de petites vacuoles dans le cytoplasme, ce qui est normal chez les juments cycliques. (Diff-Quik, grossissement original 1000×) (Walton et al., 2021).

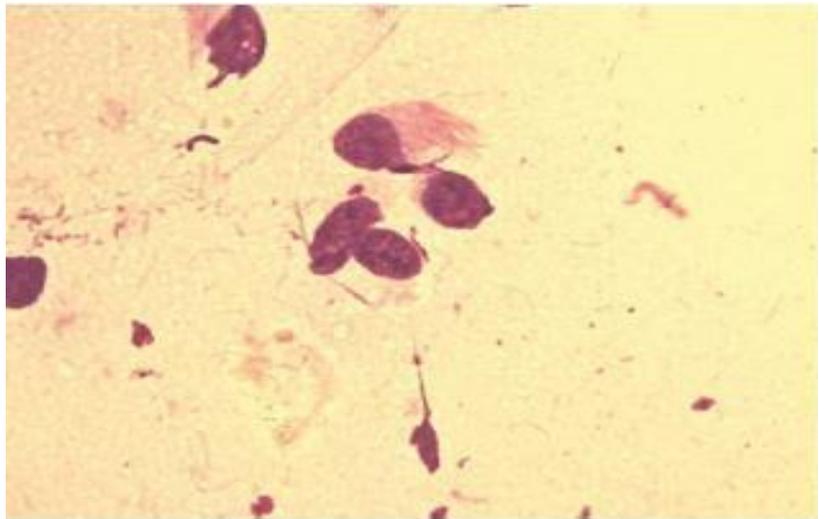


Figure 11: Cellules épithéliales utérines qui possèdent au centre des cils. Échantillon obtenu par cytobrosse endométriale. Diff-Quik, grossissement original 1000× (Walton et al., 2021).

B. Les cellules inflammatoires (Neutrophiles, Macrophages, Eosinophiles, Lymphocytes) :

Les neutrophiles sont les cellules inflammatoires prédominantes qu'on peut retrouver chez les juments atteintes d'endométrites. Elles ont un diamètre de 10 à 12 μm avec un seul noyau qui peut être divisé en 3 à 5 segments. Chez les juments saines le nombre de neutrophiles doit être faible, voire nul. Cependant le nombre de ces derniers peut augmenter considérablement après la saillie, en raison de la réaction inflammatoire physiologique de l'utérus au sperme (Card, 2005 ; Troedsson et al., 2005). Lors d'une réponse inflammatoire active, il est fréquent d'observer une hyperpigmentation nucléaire et une pyknose. En cas

d'endométrie d'origine bactérienne il est aussi fréquent d'observer des neutrophiles dégénérés (cytoplasme vacuolisé et noyau hypersegmenté) avec des bactéries phagocytées (Figure 12). D'autres types cellulaires sont observés chez les juments, par contre moins que les neutrophiles, sauf en cas d'atteinte chronique de la lumière utérine (endométrie chronique). Les lymphocytes sont de petites cellules (7-8 μm de diamètre), avec des noyaux sombres et pratiquement pas de cytoplasme. Les macrophages sont typiquement de grande taille (20 μm de diamètre), avec un cytoplasme abondant, légèrement bleu, et un grand noyau sombre (Figure 13). Les vacuoles dans le cytoplasme, ainsi que des bactéries phagocytées sont fréquemment observées. Ces deux types cellulaires peuvent être observés durant la période du post-partum précoce, en particulier les lymphocytes, alors que les macrophages sont aussi observés dans la phase de résolution de l'endométrie, ou lors de la transition printanière ou automnale et de l'œstrus hivernal (Cowell and Tyler, 2001 ; Roszel and Freeman, 1988). Les éosinophiles sont plus grands que les neutrophiles mais plus petits que les macrophages (12-15 μm de diamètre). Ces cellules sont caractérisées par un noyau lobulé coloré en bleu et de grandes vacuoles intracytoplasmiques rondes qui se colorent généralement en rose-rouge (Figure 07). Ce type de cellule est le plus souvent observé chez les juments souffrantes d'infections chroniques à levures, de pneumovagin, ou un reflux vésicovaginal (Dascanio et al.,1997 ; Zentet al., 1998 ; Slusher et al., 1984).

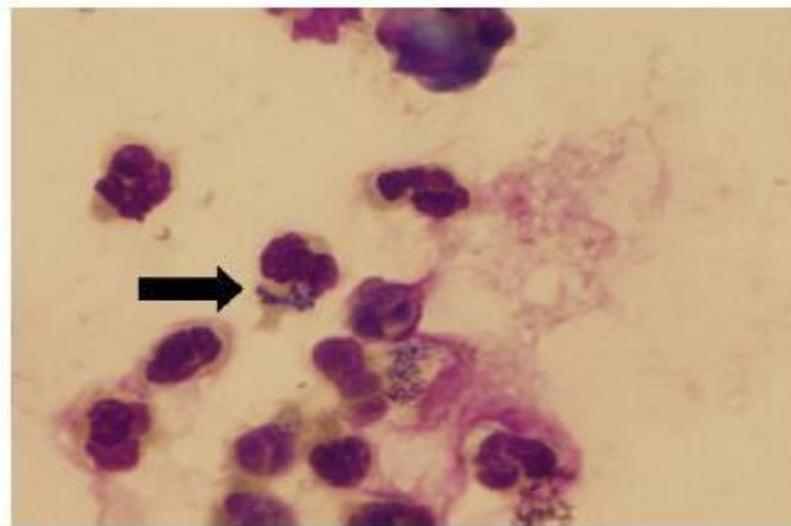


Figure 12 : Un neutrophile dégénéré est observé phagocytant des bactéries (flèche) dans une cytologie endométriale d'une d jument atteinte d'une endométrie infectieuse due à *Streptococcus zooepidemicus*. D'autres neutrophiles peuvent également être appréciés sur cette image. Diff-Quik, grossissement original 1000 \times (Walton et al., 2021).

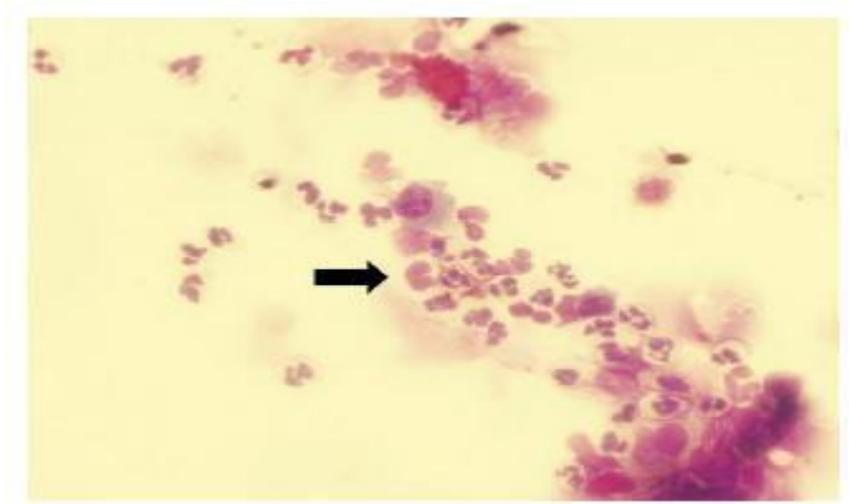


Figure 13 : Neutrophiles et macrophages (flèche) présents chez une jument atteinte d'endométrite chronique due à un retard de clairance utérine due à une incompetence du col de l'utérus. Diff-Quik, grossissement original 200× (Walton et al., 2021).



Figure 14 : Présence d'éosinophiles dans la cytologie endométriale d'une jument pouvant résulter d'une mauvaise d'une mauvaise conformation périnéale, d'un pneumovagin ou d'une accumulation d'urine dans le vagin (Walton et al., 2021).

- **Méthode d'évaluation des cellules de l'inflammation :**

Bien que sur la façon de classer le degré d'inflammation à partir des résultats de la cytologie, il n'y ait pas de consensus, car la majorité des praticiens utilisent un système de classification où le nombre des globules blancs (plus précisément les neutrophiles) est compté dans un champ de puissance de (400×). C'est une analyse qui est effectuée dans au moins 10 champs. Il est indiqué que pour confirmer que l'échantillon est de haute qualité, chaque

champ contienne de nombreuses cellules épithéliales utérines. En utilisant ce système, l'inflammation peut être classée comme normale (0-2 neutrophiles/hpf), modérée (3-5 neutrophiles/hpf) ou sévère (>5 neutrophiles/hpf). D'autres incluent également une catégorie entre l'inflammation normale et l'inflammation modérée : inflammation légère (1-2 neutrophiles/hpf) (**Ferris et al., 2015**). Il y'a aussi des études qui ont utilisé des valeurs seuils plus élevées pour classer le degré d'inflammation de l'endomètre : normale (0 neutrophile), légère (1-10 neutrophiles/10 hpf), modérée (>10 neutrophiles/10 hpf) ou forte (gros amas de neutrophiles (**Reilas and Katila, 2002**)). Lorsque la cytologie endométriale est obtenue par écouvillonnage, ces deux systèmes sont couramment utilisés (**Walton et al., 2021**).

C. Les globules rouges :

Les globules rouges sont d'une pâleur centrale et petits (6 µm de diamètre). Chez les juments normales le nombre présent est généralement faible (<4/ hpf). Cependant chez les juments en post-partum (en conjonction avec des sidérophages), ou qui ont récemment subi une biopsie de l'endomètre ou un autre type de traumatisme de l'endomètre, des nombres de GR peuvent être trouvés. Ces cellules sont faiblement colorées, gris clair à rose, et peuvent apparaître comme des cellules "fantômes dispersées parmi les autres dans la lame de microscope (**Cowell and Tyler, 2001**).

D. Bactéries, levures ou organismes fongiques :

Nous pouvons observer les bactéries « coques, bâtonnets » dans les frottis colorés avec Diff-Quik en ajoutant l'huile d'immersion et grossissement (1000×). L'observation des bactéries phagocytées par les globules blancs aidera à différencier une endométrite infectieuse active d'une contamination de l'échantillon (**Ferris et al., 2015**). Les espèces bactériennes les plus fréquemment associées à l'endométrite infectieuse chez la jument sont *S. zooepidemicus*, *S. zooepidemicus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*. La première est un coccus gram-positif (environ 1 µm de diamètre) qui forme des chaînes de différentes longueurs, tandis que les autres sont des bâtonnets gram-négatifs (3-6 µm). Il est impératif que les cliniciens sachent que la couleur acquise par les bactéries après coloration au Wright modifié ou au Diff-Quik n'est pas similaire à celle obtenue par coloration de Gram (**Walton et al., 2021**).

Les levures ont une taille typique de 5 à 8 µm avec un "halo" clair particulier autour de l'organisme, tandis que les organismes fongiques quant à eux, se présentent généralement sous la forme de longues chaînes ramifiées reliées entre elles, connues sous le nom d'hyphes

ramifiés. Les organismes fongiques et les levures les plus fréquemment observés dans les cas d'endométrite chez les juments sont *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (**Dascanio et al., 2001**). Dans de nombreux cas, l'observation d'organismes fongiques lors de l'examen cytologique de l'endomètre peut être la seule preuve d'une endométrite fongique, car ces organismes nécessitent des conditions de culture très spécifiques. (**Walton et al., 2021**).

III. La microbiologie :

La cause de l'endométrite peut être d'origine infectieuse comme elle peut ne pas l'être, mais cliniquement, ces deux dernières sont souvent associées l'une à l'autre. Comme leurs signes cliniques peuvent être impossibles à distinguer, sauf que l'endométrite infectieuse implique bien évidemment un ou plusieurs micro-organisme(s). Malheureusement, les études comparant les deux types d'endométrites chez les juments n'existent pas vraiment (**Canisso et al., 2020**).

Il faut noter que les juments présentant une anatomie reproductrice défectueuse (par ex. une mauvaise conformation vulvaire, un sphincter vestibulovaginal déchiré, sacculation ventrale de l'utérus, une altération de la contractilité utérine, une incompétence du col de l'utérus, ou même une atrophie des plis endométriaux) sont plus susceptibles d'aspirer l'air ou d'accumuler du liquide ou de l'urine dans le vagin ainsi que l'utérus, tout en prédisposant la jument à des risques induisant une endométrite infectieuse ou non (**Canisso et al., 2016 ; Trotter and McKinnon, 1988**).

Les endométrites d'origine infectieuses jouent un rôle prépondérant dans la subfertilité équine. (**Canisso et al., 2020**). Pendant la saillie, les micro-organismes y compris des bactéries et des champignons pathogènes ou opportunistes, peuvent avoir accès à l'utérus. Lorsque la jument est résistante, elle va réagir rapidement à la présence de micro-organismes, ce qui n'est pas le cas lors d'une réponse immunitaire inadéquate et un drainage insuffisant du liquide utérin (par exemple, en raison d'un utérus pendulaire, d'un col serré ou d'une contractilité myométriale altérée), ces facteurs sont la raison d'entraîner une infection (**LeBlanc and Causey, 2009 ; Overbeck et al., 2011**). Dans les cas cliniques, les bactéries les plus liées à l'endométrite sont les espèces de *Streptococcus*, suivies des coliformes, de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus* (**Canisso et al., 2016 ; LeBlanc et al., 2009 ; Walter et al., 2012 ; LeBlanc et al., 2007 ; Beltaire et al., 2012**) (**Tableau 01**). Parmi eux, *Streptococcus equi* sous-espèce *zoepidemicus* (*Streptococcus zoepidemicus*) et

Escherichia coli prédominant en tant que causes d'endométrite aiguë et chronique (Frontoso et al., 2008 ; Albiñ et al., 2003).

Il convient de noter que *Streptococcus zooepidemicus* est également à l'origine d'infections dormantes et profondément enracinées dans l'endomètre des juments, ce qui les rend résistantes aux traitements traditionnels (Petersen et al., 2015).

Les champignons sont moins souvent associés à l'endométrite (1-5%) et peuvent être présents seuls ou en association avec des bactéries (Dascanio et al., 2001). *Aspergillus* et *Candida* sont les genres les plus courants, mais d'autres espèces (par exemple, *Mucor* sp.) sont également identifiées, mais rares. Il faut noter que l'endométrite fongique se présente généralement comme une infection opportuniste, cette dernière a été identifiée après usage répété d'antimicrobiens intra-utérins (Canisso et al., 2020).

Tableau 01 : Bactéries et champignons communs isolés dans les utérus de juments souffrant d'endométrite. G+ : Gram positif ; G- : Gram négatif (Canisso et al., 2020).

Microorganismes	Familles	Caractéristiques	
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	Lactobacilles	G+, agent opportuniste, potentiellement vénérien	B a c t e r i e s
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	G-, opportuniste, anaérobie facultatif	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae	G+, potentiellement vénérien, aérobie	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Enterobacteriaceae	G-, agent opportuniste, anaérobie facultatif, potentiellement vénérien	
<i>Staphylococcus spp</i>	Bacille	G+, opportuniste, anaérobie facultatif	
<i>Taylorella equigenitalis</i>	Burkholderiaceae	G-, vénérienne, microaérophile, provoque une endométrite purulente sévère	
<i>Enterobacter cloacae</i>	Enterobacteriaceae	G-, opportuniste, anaérobie facultatif	
<i>Proteus spp</i>	Enterobacteriaceae	G-, opportuniste, anaérobie	
<i>Candida spp.</i>	Saccharomycetales	Levures, 58-69% des endométrites fongiques	c h a m p i g n o n s
<i>Aspergillus spp.</i>	Eurotiales	Moisissure avec hyphes septés, 25-26% des endométrites fongiques	
<i>Mucor spp.</i>	Mucorales	Moisissure avec hyphes aseptisées, 5-12% des endométrites fongiques	

Même si l'utilisation des agents antimicrobiens est nécessaire lors de traitement de l'endométrite d'origine infectieuse chez les juments, ces médicaments sont utilisés sans indication médicale claire, comme après la saillie, l'infusion intra-utérine d'antibiotique (**Zent et al., 1998**).

L'utilisation irrationnelle des antimicrobiens a conduit au développement rapide de la résistance à ces derniers. Par contre, l'identification correcte des microorganisme(s), en plus de la sensibilité aux antimicrobiens, est primordiale pour traiter l'endométrite et prévenir le développement de la résistance à ces médicaments (**Canisso et al., 2020**). Pour traiter l'endométrite, les antibiotiques les plus couramment utilisés sont les β -lactamines (par exemple, le ceftiofur, l'ampicilline, la pénicilline), et les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine et l'amikacine) (**Dascanio et al., 2011**). Les deux isolats les plus fréquents chez les juments souffrant d'endométrite « *Streptococcus zooepidemicus* » et « *Escherichia coli* » ont été étaient très résistants aux antimicrobiens courants (**Benko et al., 2015**).

IV. Le dosage de la progestérone :

Des études récentes ont résumé l'état actuel des connaissances des multiples mécanismes par lesquels la PBIE peut nuire à la fertilité (**Woodward & Troedsson, 2013 ; Christoffersen & Troedsson, 2017**). Cependant, on sait peu de choses sur le rôle du flux sanguin génital dans le contexte de la PBIE. Un apport sanguin adéquat à l'appareil reproducteur est essentiel pour la signalisation hormonale, la contractilité utérine, les interactions fœto-endométriales et la placentation (**LeBlanc & Causey, 2009**) En particulier, un flux sanguin utérin suffisant a été associé à une fertilité accrue chez les juments, alors qu'une perfusion réduite due à l'élastose et la dégénérescence des vaisseaux sanguins utérins compromettent la contractilité utérine chez les juments âgées, pluripares et subfertiles (**Esteller-Vico et al., 2012 ; Esteller-Vico et al., 2015**).

Il est de plus en plus évident que l'inflammation utérine altère également le fonctionnement des ovaires. Par exemple, la concentration sanguine de progestérone (P4), qui reflète la fonction du corps jaune, était réduite chez les juments souffrant d'une inflammation utérine (**Lüttgenau et al., 2021**). La fonction du corps jaune peut également être évaluée en mesurant le flux sanguin lutéal, car il existe une forte corrélation entre le flux sanguin lutéal et les concentrations plasmatiques de P4 chez les chevaux (**Bollwein et al., 2002**)

V.L'hématologie et la biochimie sanguine :

L'analyse hématologique chez les équins est d'une aide importante pour le diagnostic clinique des maladies systémiques, infectieuses et même de certaines maladies parasitaires. Elle peut également fournir des informations significatives sur la réponse au traitement, la gravité et les effets systémiques d'une maladie, ainsi que sur l'état métabolique d'un animal ou d'un troupeau (**Ricketts, 1987 ; Lassen & Swardson, 1995 ; Messer, 1995**).

Malgré l'utilisation répandue de l'hématologie en médecine équine, l'interprétation peut s'avérer difficile dans certains cas, car elle peut être influencée par un grand nombre de facteurs. Les paramètres hématologiques peuvent varier en fonction de la race, du sexe, de l'âge, l'état reproducteur, la condition physique et les niveaux d'entraînement, l'exercice, l'alimentation, les variations circadiennes, la procédure de manipulation des animaux pendant la prise de sang, le degré d'excitation et l'état de santé (**Meliani et al., 2014**).

Le cheval est unique par rapport à la plupart des autres espèces de mammifères, car sa rate est un organe très volumineux, qui stocke jusqu'à un tiers des globules rouges, et cette réserve peut être mobilisée par l'exercice, le stress ou même l'excitation (**Lassen & Swardson, 1995 ; Satue et al., 2009 ; Persson, 1967 ; Schalm et al., 1975**).

Tableau 02 : Les valeurs hématologiques usuelles chez le cheval (**Jain, 1986**).

Paramètres	Unité	Intervalle de référence
Leucocytes	/mm ³	5400-14300
Hématies	X 10 ¹² /L	6.8-12.9
Hb	g/dl	11 à 19
Ht	%	32-52
VGM	fl	37-58
CCMH	g/dl	31-38.6
TCMH	pg	12.3-19.9
Plaquettes	×10 ³ /mm ³	100-350
Neutrophiles	/mm ³	2260-8580
Eosinophiles	/mm ³	0-1000
Basophiles	/mm ³	0-290
Lymphocytes	/mm ³	1500-7700
Monocytes	/mm ³	0-1000

Les dosages des protéines totales peuvent être effectués sur le sérum ou le plasma. La méthode employée pour mesurer la quantité totale de protéines en solution varie en fonction de la quantité de protéines dissoutes et est donc choisie en fonction du liquide biologique étudié. La technologie utilisée pour mesurer les protéines totales peut être basée sur des mesures chimiques ou physiques. Dans le laboratoire de diagnostic, les méthodologies chimiques sont utilisées car elles s'adaptent facilement à des analyses automatisées. D'autre part, la détermination des protéines totales, par exemple dans un cabinet vétérinaire, peut être réalisée à l'aide de la réfractométrie, qui dépend des propriétés physiques des protéines en solution (Eckersall, 2008).

Tableau 03 : la valeur des protéines totales plasmatiques chez le cheval (Fontequé et al., 2015).

Paramètres	Unité	Intervalle de référence
Protéines totales plasmatiques	g/L	54-82

VI. La biopsie utérine :

L'utilisation de la biopsie est indiquée aussi pour le diagnostic de l'endométrite, ainsi pour indiquer la capacité supposée des juments à porter un poulain à terme (Canisso et al., 2020). Kenney et Doig ont mis au point un système de classification dans lequel l'endomètre est évalué en fonction de la distribution glandulaire, des cellules inflammatoires, des lacunes lymphatiques et de la fibrose, puis classé sur une échelle de I à III (Kenney & Doig 1986).

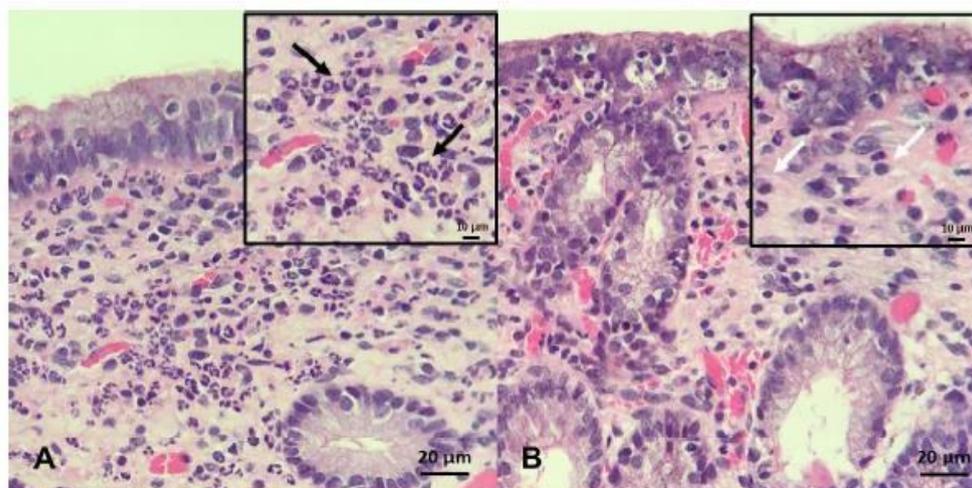


Figure 15 : Échantillons de biopsie de l'endomètre colorés au H&E (grossissement $\times 20$, insert $\times 40$) : (A) Une jument avec une endométrite aiguë et persistante induite par la saillie, caractérisée par un infiltrat neutrophile massif dans le stratum compactum et le spongiosum.

- Les flèches noires indiquent les neutrophiles présentant une endométrite chronique persistante induite par la saillie, caractérisée par des infiltrats lymphocytaires importants dans le stratum compact de l'endomètre
- Les flèches blanches indiquent les lymphocytes. Échelle barres de 10 µm (A et B) ; et 20 µm (A et B). (Canisso et al., 2020).

Tableau 04 : Les scores de la biopsie endométriale de la jument attribués par Kinney et Doig (Van Camp, 1988).

Catégorie	Description
I	Aucune anomalie n'a été constatée ou seules des modifications légères et dispersées ont été observées, Les juments de cette catégorie ont des chances normales de porter un poulain à terme. Un endomètre hypoplasique ou atrophié disqualifie une jument de la catégorie I.
IIA	Les changements qualifiables sont : (1) une infiltration cellulaire légère à modérée et diffuse de la couche compacte du stratum compactum. (2) foyers inflammatoires épars et fréquents dans le stratum compactum ou le stratum spongiosum. (3) changements fibrotiques fréquents et dispersés associés à des branches glandulaires individuelles, quel que soit leur degré de gravité. (4) moins de deux nids glandulaires fibrotiques par champ linéaire de 5,5 mm dans quatre champs ou plus. (5) lacunes lymphatiques palpables, ou (6) atrophie partielle de l'endomètre à la fin de la saison de reproduction physiologique.
IIB	Les lésions qui permettent à une jument d'être classée dans la catégorie IIB sont : (1) Des foyers d'inflammation étendus, diffus et modérément sévères. (2) Fibrose étendue et uniformément répartie des branches glandulaires individuelles, ou (3) Une moyenne de deux à quatre nids fibrotiques par champ linéaire de 5,5 mm dans quatre champs ou plus.
III	Les endométries de catégorie 3 sont celles dont le pronostic est le plus sombre. elles présentent des modifications sévères ou irréversibles de l'utérus. Si l'utérus présente (1) Une fibrose périglandulaire étendue, quel qu'en soit le degré de gravité, telle qu'une moyenne de cinq nids ou plus par 5,5 mm dans quatre champs linéaires ou plus a été observée. (2) une inflammation grave et étendue. (3) des lacunes lymphatiques palpables, ou (4) un endomètre hypoplasique, la biopsie est classée dans la catégorie III.

Comme ces aspects de la dégénérescence endométriale sont associés à une prédisposition à l'endométrite, la prédiction de la fertilité de la jument nécessite un score de biopsie qui doit être combiné à une histoire clinique de cette dernière (Kenney, 1975 ; Ricketts & Alonso, 1991).

Le traitement traditionnel des endométrites est basé sur le lavage utérin, les ecboliques, les anti-inflammatoires, et les anti-microbiens (Canisso & da Silva, 2016). La Résistance aux anti-microbiens est croissante, conduisant au développement de thérapies alternatives pour les juments souffrant d'endométrite chronique (Scoggin, 2016).

I. Les agents ecboliques :

Les ecboliques sont une classe pharmacologique de médicaments utilisés pour stimuler les contractions utérines afin d'éliminer l'accumulation de liquide intra-utérin via le col de l'utérus et le drainage lymphatique (Canisso et al., 2020).

1. L'ocytocine, l'ecbolique le plus couramment utilisé, est généralement administré à tout moment avant la saillie (sauf jusqu'à une heure avant la saillie), puis entre 4 heures après la saillie et 72 heures après l'ovulation. On pense que le transport des spermatozoïdes vers les trompes utérines est terminé 4 heures après la saillie ; il s'agit donc de la période la plus courte pendant laquelle les juments peuvent recevoir un ecbolique ou un lavage utérin sans compromettre les taux de gestation (Brinsko et al., 1991).

Après l'ovulation, le col de l'utérus se referme, empêchant l'élimination du liquide utérin par le col de l'utérus (Troedsson, 1997). Cependant, des quantités minimales de liquide peuvent encore être éliminées par les vaisseaux lymphatiques présents dans l'utérus. De faibles doses d'ocytocine (10-20 unités) induisent des contractions utérines rapides et de courte durée, alors que des doses plus élevées (par exemple 40 unités) entraînent des contractions tétaniques et moins efficaces (Rasch et al., 1996 ; Cadario et al., 1999 ; Madill et al., 2002 ; Campbell and England, 2002). Les effets de l'ocytocine exogène devraient durer environ 45 minutes, ce qui nécessite des doses répétées (Troedsson et al. ; 1995).

2. Le cloprosténol, un analogue du $\text{PGF}_2\alpha$, est un autre ecbolique utilisé en pratique clinique pour traiter l'accumulation de liquide intra-utérin chez les juments (Scoggin, 2016). Ce médicament induit une activité myométriale plus longue (5 heures) que l'ocytocine (Brendemuehl & Diplomate, 2001 ; Leblanc, 2003). Favorisant le nettoyage de l'utérus et le drainage lymphatique chez les juments ayant un utérus pendulaire (Leblanc, 2003). Cependant, les signes de coliques (p. ex. coups de sabot, contractions abdominales, transpiration, tachypnée) qui suivent l'administration de $\text{PGF}_2\alpha$ sont des caractéristiques indésirables (Irvine et al., 2002). En outre, l'administration de $\text{PGF}_2\alpha$ à partir de 18-24 heures après l'ovulation peut compromettre la formation et la fonction du corps jaune,

entraînant ainsi des concentrations systémiques sous-optimales de progestérone et une diminution des taux de gestation (**Brendemuehl & Diplomate, 2001 ; Nie et al., 2002**).

3. Le carbétocine, un analogue de l'ocytocine, est un autre médicament ecbolique utilisé pour favoriser des contractions utérines plus douces et plus longues que l'ocytocine (**Schramme et al., 2008 ; Steckler et al., 2012**). La carbétocine est un octapeptide cyclique dont le groupe amino est remplacé par un atome d'hydrogène, la liaison disulfure est modifiée par une liaison thioéther et le groupe hydroxyle de la tyrosine est remplacé par un groupe méthoxyle, ce qui permet d'éviter une métabolisation précoce après l'administration (**Schramme et al., 2008**). La demi-vie de la carbétocine est 2,5 fois plus longue (17 minutes) que celle de l'ocytocine (6 minutes) (**Schramme et al., 2008 ; Steckler, D., Naidoo et al., 2012**).

II. Le lavage utérin :

Le lavage utérin est recommandé chez les juments présentant une accumulation excessive de liquide intra-utérin (par exemple, >2cm de profondeur) et une échogénicité élevée à l'échographie (**Brinsko et al., 2003**). Les solutions cristalloïdes telles que la Solution de Ringer Lactate (LRS) et le sérum physiologique à 0,9 % sont le plus souvent utilisés pour le lavage de l'utérus des juments (**Vanderwall & Woods, 2003**). Le choix du moment approprié pour le lavage est considéré comme plus important que le choix du liquide de lavage (**Morris et al., 2020**). Le volume et la fréquence dépendent de la gravité de l'endométrite, et s'appuie généralement sur 2 à 4 L une ou deux fois par jour (**Scoggin, 2016**).

Comme l'ont montré des études que certaines bactéries, comme *Escherichia coli*, peuvent utiliser le lactate (présent dans le LRS) (**Canisso et al., 2020**). Ni le lavage utérin effectué immédiatement avant l'insémination (**Vanderwall & Woods, 2003**), ou 4 heures après n'a été préjudiciable à la fertilité, tandis que le lavage à 0,5 ou 2 h après l'insémination a diminué le taux de conception (**Brinsko et al., 1990**). Il peut être effectué à tout moment avant ou à partir de quatre heures après la saillie. Quatre heures après cette dernière sont reconnues comme le temps minimal nécessaire pour que les spermatozoïdes atteignent les trompes utérines, sans interférer avec la fertilité (**Brinsko et al., 1991 ; Brinsko et al., 1990 ; Fiala et al., 2007**).

Le lavage utérin permet d'éliminer physiquement les micro-organismes, les débris, les cellules et médiateurs inflammatoires et les spermatozoïdes morts de la lumière, ce qui peut

être préjudiciable pour les spermatozoïdes avant la saillie, ou pour l'embryon après (**Brinsko et al., 2003 ; Vanderwall & Woods, 2003 ; Knutti et al., 2000**). En outre, en cas d'état inflammatoire stagnant, le lavage de l'utérus peut réintroduire des neutrophiles viables pour rétablir une dégradation active des microbes (**Canisso et al., 2020**).

III. L'utilisation des antibiotiques :

Si les antimicrobiens sont nécessaires pour traiter l'endométrite infectieuse chez les juments, ces médicaments sont aussi souvent utilisés sans indication médicale claire, comme par exemple l'infusion intra-utérine d'une dose d'un seul antibiotique suivant la saillie (**Zent et al., 1998**). L'utilisation irrationnelle des antimicrobiens a conduit au développement rapide de la résistance à ces médicaments. Par conséquent, l'identification correcte du/des micro-organisme(s), en plus de la sensibilité aux antimicrobiens, est primordiale pour traiter l'endométrite et prévenir le développement de la résistance avec succès (**Canisso et al., 2020**).

Étant donné que les isolats bactériens les plus courants dans le tractus génital de la jument sont *Streptococcus* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp et *Staphylococcus* sp (**Canisso et al., 2016 ; LeBlanc and Causey, 2009 ; LeBlanc & Causey, 2009 ; Walter et al., 2012 ; LeBlanc et al., 2007; Beltaire et al., 2012**). Les antimicrobiens les plus couramment utilisés pour traiter l'endométrite sont les β -lactamines (par exemple, le ceftiofur, l'ampicilline, la pénicilline) et les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine et l'amikacine) (**Dascanio, 2011**). Il est intéressant de noter que *Streptococcus zooepidemicus* et *Escherichia coli*, les deux isolats les plus fréquents chez les juments souffrant d'endométrite, ont été étaient très résistants aux antimicrobiens courants (**Benko et al., 2015**). L'un des défis dans le développement d'une stratégie de traitement est que l'identification de l'agent infectieux n'est pas toujours cohérente avec la preuve cytologique de l'inflammation (**Davis et al., 2013**). En effet, seulement 62% des infections à *S. zooepidemicus* et 43% des infections à *E. coli* présentent des signes cytologiques d'inflammation (**Morris et al., 2020**).

Les antimicrobiens utilisés pour le traitement de l'endométrite peuvent être administrés par perfusion intra-utérine ou par voie systémique. Il convient de noter que tous les antimicrobiens systémiques ne peuvent pas être administrés dans l'utérus sans certains ajustements. C'est le cas par exemple des fluoroquinolones telles que l'enrofloxacin. La formulation systémique de l'enrofloxacin ne peut pas être utilisée dans l'utérus, car le véhicule provoque une nécrose de l'endomètre (**Rodriguez et al., 2012**). Cependant, si elle est

préparée avec un véhicule différent, l'enrofloxaciné peut être administrée en toute sécurité dans l'utérus (**Schnobrich et al., 2015**). En outre, les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine et l'amikacine) doivent être tamponnés avec du bicarbonate de sodium pour contrebalancer leur pH acide de 4 (**Canisso et al., 2016 ; LeBlanc, 2009**).

La perfusion d'antimicrobiens incompatibles dans l'utérus peut précipiter et laisser des résidus dans l'utérus, ce qui pourrait perturber les interactions entre l'embryon et l'endomètre (**Canisso et al., 2020**).

Historiquement, le traitement antibiotique intra-utérin a été préféré plutôt qu'une approche systémique par voie parentérale (**LeBlanc, 2009**). En partie en raison du risque faible d'effets secondaires d'un traitement antibiotique sur la flore intestinale du cheval (**Davolli et al., 2018**). Les perfusions intra-utérines produisent de fortes concentrations locales d'antibiotiques dans la lumière utérine (**LeBlanc, 2009**). Cependant, des facteurs tels que l'invasion répétée du col de l'utérus pendant le traitement, l'inhibition des antibiotiques par les débris inflammatoires, l'optimisation du volume de traitement et le pH non physiologique des antibiotiques, tous ces facteurs contribuent à réduire l'efficacité des antibiotiques, le risque d'infection iatrogène et d'inflammation, ainsi que l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens. Distribution homogène de l'antibiotique de choix à des niveaux dépassant la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les bactéries cibles dans l'endomètre est nécessaire, et récemment l'efficacité d'un traitement antibiotique systémique et la relation entre les niveaux plasmatiques et les tissus ont été démontrées pour le ceftiofur (**Witte et al., 2010 ; Scofield et al., 2014**). Gentamicine, ticarcilline, néomycine, amikacine (**Witte et al., 2010**), sulfadiazine et triméthoprime. (**Davolli et al., 2018**).

La réalisation d'un test de sensibilité aux antimicrobiens est une étape clé du diagnostic des infections utérines, qui permet de s'assurer que les bactéries sont sensibles in vitro à l'antibiotique choisi. Les résultats de la culture et de la sensibilité des écouvillons utérins soumis à des laboratoires commerciaux ont montré comment les profils de sensibilité et de résistance bactériennes varient d'une patiente à l'autre, d'une région à l'autre et au fil du temps, avec des degrés de résistance à de nombreux antibiotiques couramment sélectionnés, notamment la gentamicine, la pénicilline, la ticarcilline et le sulfamate de triméthoprime, sont évidents (**Albihn et al., 2003 ; Davis et al., 2013 ; Mitchell et al., 2018**).

IV. Le traitement par le miel :

L'utilisation du miel comme remède traditionnel contre les infections microbiennes remonte à l'Antiquité (**Molan, 1992**).

A. Effet antibactérien :

Le rôle bénéfique du miel est attribué à ses propriétés antibactériennes en raison de son osmolarité élevée, de son acidité (pH faible) et de sa teneur en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et en substances non peroxydiques, c'est-à-dire la présence de composants phytochimiques comme le méthylglyoxal (MGO) (**Weston, 2000 ; Bang et al., 2003**). Les agents antimicrobiens présents dans le miel sont principalement le peroxyde d'hydrogène, dont la concentration est déterminée par les niveaux relatifs de glucose oxydase, synthétisée par l'abeille, et de catalase provenant du pollen des fleurs. (**Weston, 2000**). La plupart des types de miel génèrent du H₂O₂ lorsqu'il est dilué, en raison de l'activation de l'enzyme glucose oxydase qui oxyde le glucose en acide gluconique et en H₂O₂, ce qui explique l'activité antimicrobienne du miel (**Bang et al., 2003**).

Le miel est caractéristiquement acide avec un pH compris entre 3,2 et 4,5, suffisamment bas pour inhiber plusieurs bactéries pathogènes (**Koochak et al., 2010**). Les valeurs minimales de pH pour la croissance de certaines bactéries pathogènes courantes sont les suivantes : E. coli (4,3), P. aeruginosa (4,4), S. pyogenes (4,5) (**O'Grady et al., 1997**). Et donc dans le miel non dilué, l'acidité est un facteur antibactérien important. Les propriétés antibactériennes du miel proviennent également l'effet osmotique de sa forte teneur en sucre et de sa faible humidité, ainsi que des propriétés acides de l'acide gluconique et des propriétés antiseptiques de son H₂O₂ (**Khan et al., 2007**).

B. Effet anti-inflammatoire :

Un certain nombre d'études ont été menées sur les effets du miel sur les taux sériques d'IL-6 et d'IL-1. La plupart d'entre elles ont fait état d'une réduction des taux d'IL-6 et d'IL-1 après l'intervention du miel (**Almasaudi et al., 2016 ; Choi et al., 2017 ; Hussein et al., 2012 ; Mohd Sairazi et al., 2018**). Cependant, les durées, le type de miel et le dosage diffèrent, ce qui rend difficile une synthèse cohérente (**Navaei-Alipour et al., 2021**). Certaines études ont montré une augmentation des niveaux de TNF- α , ce qui met en évidence le fait que le miel est une combinaison complexe de composants bioactifs pro-inflammatoires et anti-inflammatoires (**Gannabathula et al., 2015 ; Gannabathula et al., 2012 ; Raynaud et al., 2013 ; Song et al., 2012**).

Matériel et méthodes

L'objectif de notre étude était de mettre en évidence la fréquence et l'importance de l'endométrite post-saillie chez la jument dans la région de Tiaret, ainsi que son impact sur la fertilité de cette espèce.

Cette étude est basée sur la méthode de gestion de l'élevage, en impliquant les différents moyens de diagnostic des pathologies de la reproduction qui touchent la jument parmi lesquelles la PBIE, et la mettre en évidence par les différents moyens tels que : l'échographie, la cytologie endométriale, la microbiologie, l'hématologie et la biochimie, ainsi que l'histopathologie. Après la réalisation d'un diagnostic, notre approche était de traiter s'il le faut et proposer un traitement alternatif pour les juments qui ont développé une résistance aux antibiotiques après avoir tester leur sensibilité.

I. Echantillonnage :

Notre travail a été effectué durant les deux saisons administratives de 2022 et 2023 allant du 15 Février 2022 au 30 Juin 2022 puis du 15 Février 2023 au 30 Juin 2023. Pour la sélection, un suivi quotidien de 160 juments par échographie dont le but d'évaluer l'activité folliculaire, puis 18 juments ont été sélectionnées au hasard dont les races (7 Arabes Barbes), (7 Pur-sang arabe), (4 Barbes), Âgées de 4 à 20 ans, avec un score corporel au moins égale à 2/5, non gravides, cliniquement saines, cycliques, nourries avec du fourrage, orge de blé et pâturage.

Les éleveurs ont donné leur accord écrit pour effectuer les différentes manipulations sur leurs juments.

II. Lieu d'étude :

Cette recherche a eu lieu au niveau de la wilaya de Tiaret, une partie a été effectuée au niveau de la bergerie équine de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret (ISV), et l'autre au niveau d'un haras privé (Haras El Mesk) de FEGHOULI.

A. Description des lieux :

1. Bergerie de l'ISV :

Bureau des vétérinaires responsables.

Un laboratoire.

Des boxes pour les chevaux.

Aire munie de barre de soufflage et saillie.
Salle de travail dotée d'un échographe.
Paddocks.

2. Haras El Mesk :

Activité : unité d'élevage et centre de rayonnement auprès des éleveurs équins en collaboration avec l'ONDEEC, le CNIAAG et la chambre de l'agriculture.

Date de début d'activité : 2010.

Superficie : 52 Hectares.

Localisation : Route de Ain Bouchakif Tiaret.

Infrastructures :

Bureau du vétérinaire du Haras.

Laboratoires et annexes de prélèvement et reproduction doté d'un Echographe.

Ecuries : (Nombre de boxes disponibles : 115).

- Ecurie (A) : pour les juments.
- Ecurie (B) : pour étalons.
- Ecurie (C) : pour poulains et juments vides.

02 hangars (575 m²) Pâturage en paddocks.

Irrigation : par kits d'aspersion

02 puits.

02 bassins d'eau.

Les juments étaient nourries avec un aliment concentré (orge mouillé) à raison de 3 Kg matin et 3 Kg le soir.

La quantité de fourrage distribuée (foin d'avoine) est une botte pour 5 juments.

La distribution quotidienne des aliments concentrés aux juments se fait de manière manuelle deux fois par jour à la même heure le matin 08h :30 et l'après –midi à 16h :00.

En plus de la ration journalière, de 10h à 15h les juments partent aux paddocks pour faire de l'exercice et un broutage d'herbe.



Figure 16 : Localisation géographique du lieu d'étude.

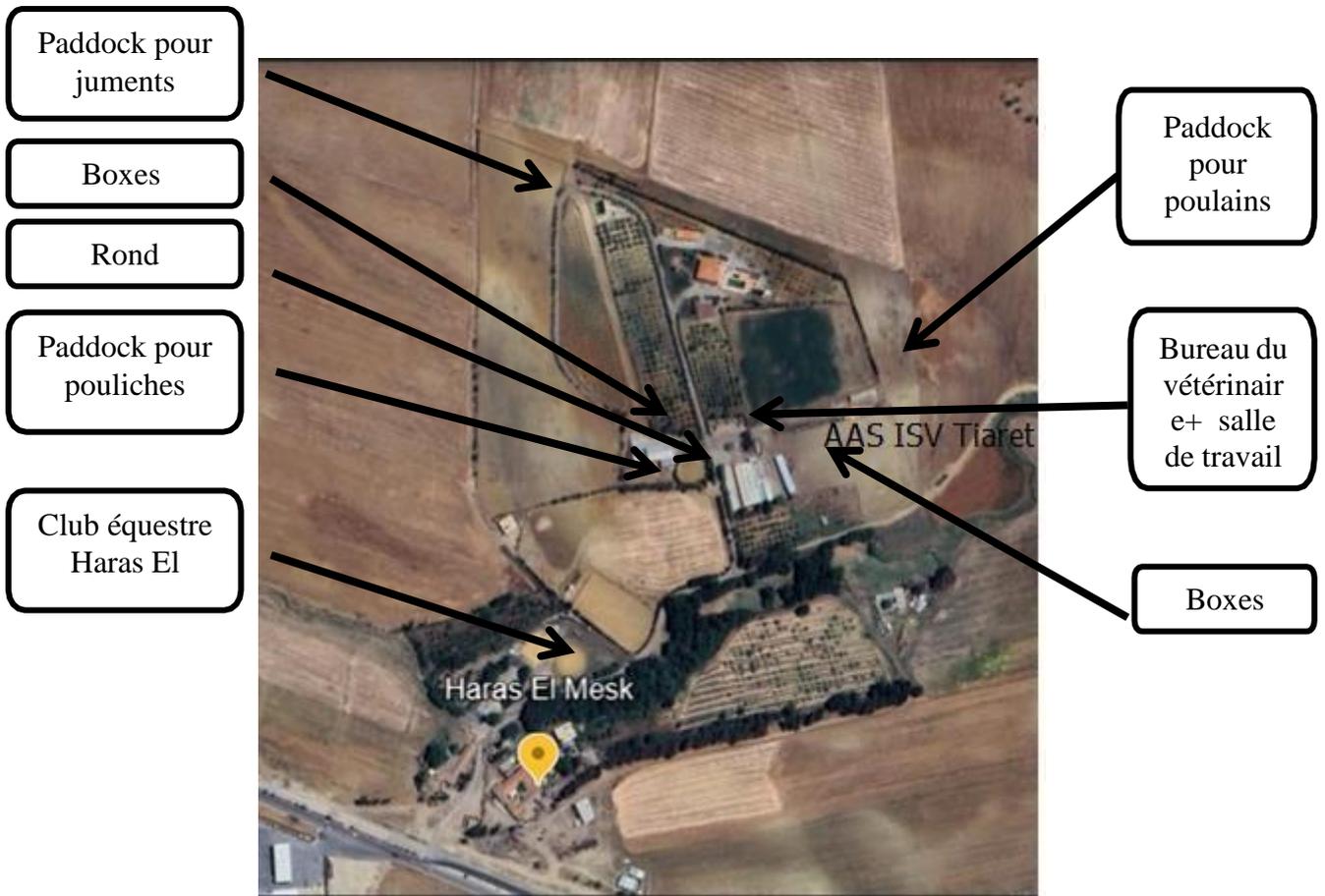


Figure 17 : Situation géographique et présentation du haras.



Figure 18 : Situation géographique et présentation de la bergerie équine de l'ISV Tiaret.

III. Protocol expérimental :

Une échographie a été réalisée (échographe Sonoscape A6 munie d'une sonde linéaire de 5 à 8 MHz), Tous les deux jours à partir du début de l'œstrus, l'examen de l'appareil reproducteur a été effectué, puis un autre 6 heures après la saillie/l'IA (et également après 48 heures pour déterminer l'ovulation des juments). Le diamètre du follicule dominant, l'œdème endométrial, la présence et la mesure des liquides intra-utérins (IUF) ont tous été notés. Des examens supplémentaires ont été effectués 14 et 45 jours après l'ovulation pour le diagnostic de gestation.

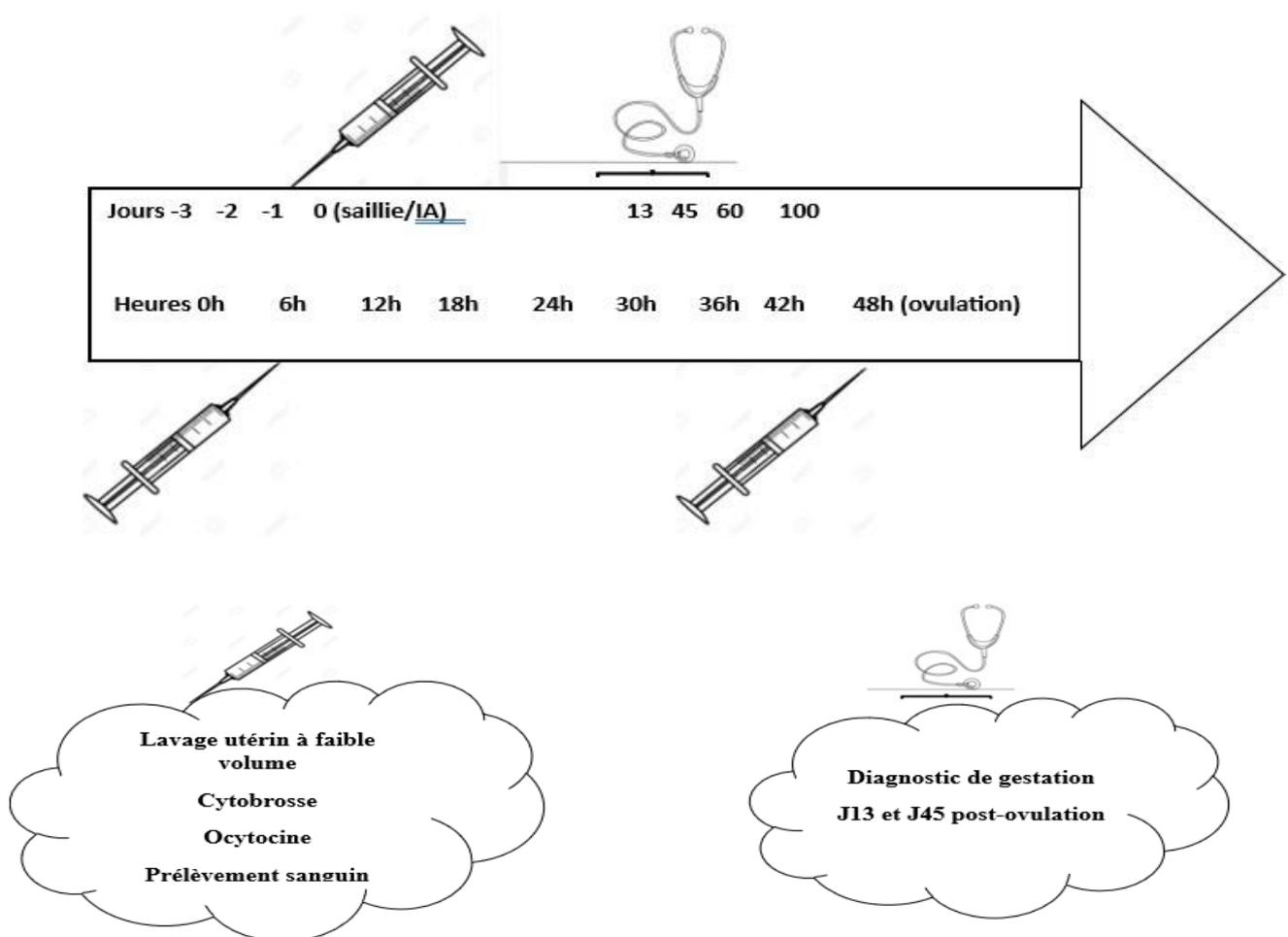


Photo 01 : Echographe Sonoscape A6 (photo personnelle).

Dès que le follicule dominant avait un diamètre d'environ 30 mm et qu'il y avait un œdème utérin, les examens étaient effectués tous les jours.

Lorsqu'un diamètre folliculaire d'au moins 35 mm était observé, le premier échantillon était prélevé 24 heures avant la saillie/IA considéré comme un témoin et nous donne des informations sur l'état de la jument avant la mise à la reproduction. Dans le prélèvement un lavage utérin à faible volume 60ml a été effectué dans le but de réaliser une culture bactérienne du liquide récolté, une cytologie endométriale à l'aide d'une cytobrosse a été réalisée juste après, puis une prise de sang de la veine jugulaire droite ou gauche pour une évaluation hématologique, biochimique ainsi hormonale (dosage de P4).

Le 2^{ème} prélèvement été effectué 6 heures après la saillie/IA, et le dernier 48 heures après la saillie/IA de la même façon que le premier prélèvement.



Protocol expérimental

A. Protocol d'insémination artificielle avec semence fraîche :

La semence a été récoltée à l'aide d'un vagin artificiel, et a été filtrée pour séparer le gel, puis un spermogramme a été réalisé pour voir la concentration en spermatozoïdes/mL (minutube, SDM1, calibré pour les équidés). la semence a été mélangée avec des diluants, et de la gentamicine.

Avant l'IA, la queue de la jument a été bandée, la région ano-vulvaire a été lavée avec de la povidone iodée et séchée avec une serviette en papier. L'évaluation de la qualité de la semence a été effectuée avec le CASA (Computer Assisted Sperm Analysis). Une dose d'insémination (40 ml de sperme avec un nombre total de spermatozoïdes supérieur à 200×10^6 , avec une mobilité des spermatozoïdes supérieure à 60 %) a été déposée dans le corps utérin à l'aide d'un cathéter d'insémination stérile par une main recouverte d'un gant obstétrical stérile et d'un gel stérile à travers le vagin et le col de l'utérus.



Photo 02 : Photomètre minutube SDM 1, étalonné pour les équidés et CASA (photo personnelle).

B. Méthode de prélèvement :

1. La microbiologie :

Avant chaque prélèvement, la région périnéale de la jument a été préparée de la même manière que pour l'IA. La jument a été placée dans une salle avec un travail de contention, la queue a été bandée et attachée, un nettoyage de la région périnéale avec un savon liquide, puis un séchage de cette zone a été effectué avec un papier absorbant.



Photo 03 : Région périnéale d'une jument, nettoyée, et séchée pour le prélèvement (photo personnelle).

Une fois toutes ces étapes faites le lavage utérin a été effectué comme suite :

- En utilisant une sonde et une seringue stériles à usage unique, une injection de 60 mL de sérum salé ou eau physiologique à 38°C.
- La sonde stérile a été guidée manuellement dans l'utérus par une main recouverte d'un gant obstétrical stérile et d'un gel stérile.
- Une fois, la sonde a dépassé le col de l'utérus, le liquide a été injecté en attendant 3 mn.
- Ensuite, le liquide a été aspiré par la seringue, et recueilli et mis dans un pot d'échantillonnage stérile, la quantité recueillie étant comprise entre 10 et 55 ml.
- Après chaque lavage utérin une dose d'ocytocine de 2 CC a été injectée par voie IM, afin d'aider la jument à évacuer le liquide restant dans l'utérus.

Le prélèvement a été placé dans une glacière, et transporté au laboratoire de microbiologie, conservé au frais (0°C à 4°C) et analysé immédiatement ou dans les 24 heures qui suivent.

Le prélèvement a étéensemencé dans un bouillon nutritif et aussi sur plusieurs géloses : MacConkey Agar, Sabouraud Agar, Chapman Agar, BEA Agar, King A Agar, et la gélose au sang de mouton 5%. Puis incubés pendant 24h à 37°C pour la culture bactérienne, et 5 jours à 37°C pour la pousse des champignons dans le milieu Sabouraud. Le choix de tous ces milieux est pour permettre au plus grand nombre possible de micro-organismes potentiellement présents de se développer. L'incubation a été faite dans l'anaérobiose aussi en choisissant une autre gélose au sang humain.

A partir de chaque échantillon positif, un repiquage et une purification par des stries sur la gélose. Une coloration de Gram a été réalisée chaque fois pour contrôler la pureté des souches. Les souches pures ont été soumises au test de catalase et d'oxydase, et coagulase, puis la conservation de ces dernières au froid à -20°C dans du bouillon coeur cervelle (BHIB) ajouté à 20% de glycérol.

○ **Tests d'orientation :**

- **Test de catalase :**

La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif. Une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) a été déposée sur une lame avec une colonie de la culture. Un dégagement de bulles d'oxygène dans l'immédiat exprime la positivité de la catalase.

- **Test d'oxydase :**

Ce test a été effectué pour l'identification des bactéries Gram négatif. Les disques d'oxydase ont été placés dans une lame, une colonie fraîche a été choisie et prélevée à l'aide d'un bâtonnet (pas en métal cela peut fausser le résultat), la colonie a été frottée délicatement sur le disque, si la réaction a été positive, une coloration violette a été apparue dans le disque dans les 30 secondes qui suivent.

- **Test de coagulase :**

C'est un test qui différencie les *Staphylococcus aureus* du reste des staphylocoques. Une suspension bactérienne a été préparée dans un plasma de sang. Cette dernière est incubée dans une étuve à 37°C/4h. au cas où le résultat est négatif, le tube doit être laissé pendant 24h dans une température ambiante. La coagulation est positive indique la transformation du fibrinogène en fibrine.

- **Tests biochimiques :**

Les cultures positives ont été identifiées aussi par des méthodes spéciales d'analyse biochimique dont les galeries API et le VITEK 02.

- Les tests API ont été inclus dans la présente étude, l'API 20 NE pour identifier les non-

entérobactéries à Gram négatif, l'API 20E pour identifier les micro-organismes appartenant aux genres Enterobacteriaceae et autres bâtonnets à Gram négatif non fastidieux, l'API 20 Staph pour identifier les Staphylococcus, et enfin l'API 20 Strept pour l'identification des Streptococcus et des Enterococcus.

La galerie API contient une série de cupules qui permet chacune de réaliser un test biochimique différent. La chambre d'incubation a été remplie d'eau pour maintenir un environnement d'incubation humide, ensuite la galerie API stérile a été déposée dans cette chambre. L'anse d'inoculation a été stérilisée par la flamme du bec bunsen. Les colonies bactériennes ont été prélevées avec l'anse. Les bactéries ont été déposées dans un tube sec stérile contenant de l'eau physiologique stérile/ medium puis homogénéisées avec un vortex, et déposées dans les cupules de la galerie comme indiqué dans la fiche technique. La première lecture a été faite après une incubation de 4h et la 2^{ème} après 24h. Selon le virement de couleur des différents tests un code a été obtenu et mis dans le logiciel d'identification apiweb TM.

○ **Antibiogramme classique :**

Le test de sensibilité aux antibiotiques par diffusion en disque a été réalisé après l'isolement et l'identification des colonies, soit dans le milieu de Mueller Hinton.

Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures après l'inoculation des bactéries.

Les résultats de l'évaluation de l'inhibition de la croissance bactérienne ont ensuite été classés comme sensibles, intermédiaires ou résistants.

Les antibiotiques sélectionnés ont été fonction des milieux dans lesquels les cultures microbiennes ont été réalisées selon la CLSI 2021.

Tableau 05 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les entérocoques.

Famille	Antibiotique	Charge du disque
β-lactamines	Cefotaxime	30µg
	Cefoxitine	30µg
	Ceftazidime	30mg
Aminosides	Gentamycine	10µg
phénicoles	Chloramphénicol	30mg
Aminosides	Amikacine	30mg
β-lactamines	Pénicilline	1 ui
Sulfamides	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg
Polymyxines	Colistine	50µg
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5µg

Tableau 06 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les staphylocoques.

Famille	Antibiotique	Charge du disque
β -lactamines	Pénicilline G	6 μ g(10ui)
Aminosides	Kanamycine	1000 μ g
Macrolides	Erythromycine	15mg
Aminosides	Gentamycine	10 μ g
β -lactamines	Oxacilline	5 μ g
Aminosides	Amikacine	30mg
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5 μ g

Tableau 07 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme pour les pasteurelles.

Famille	Antibiotique	Charge du disque
Aminosides	<i>Gentamicine</i>	10 μ g
	<i>Amikacine</i>	30mg
β -lactamines	<i>Ceftazidime</i>	30mg
	<i>Cefotaxime</i>	30 μ g

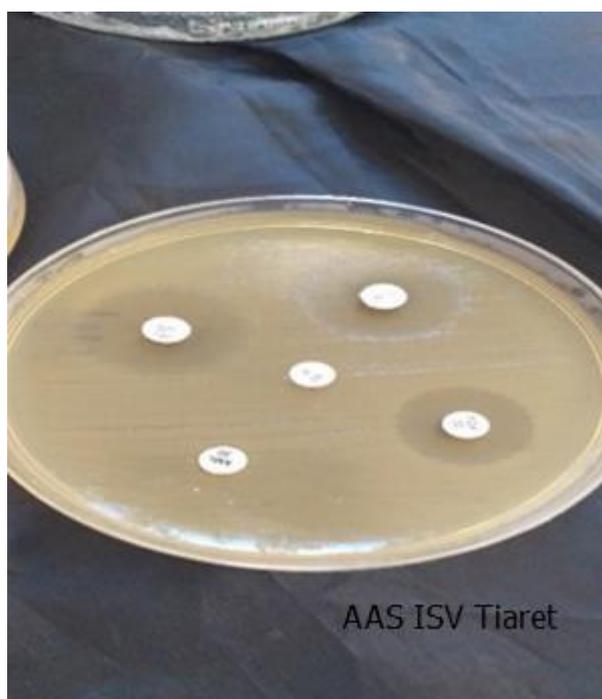


Photo 04 : Antibiogramme classique (photo personnelle).

- Le VITEK 2 a été utilisé pour 3 souches d'E.coli. Une culture bactérienne jeune de 18-24h a été mélangée avec le sérum salé stérile pour avoir une suspension bactérienne, et standardisation 0,5 McFarland a été réalisée. Les suspensions préparées ont été déchargées dans les puits de carte d'identification et déposées dans le lecteur automatisé. Les résultats ont été interprétés automatiquement par le logiciel VITEK 2 Advanced expert system.

L'antibiogramme au VITEK est effectué pour 1 souche par l'automate (VITEK 2 COMPACT Biomérieux), en utilisant des cartes AST-N365 spécifiques aux bactéries Gram négatif.



Photo 05: Automate VITEK 2 COMPACT Biomérieux (photo personnelle).

Les antibiotiques qui ont été inclus sont : ampicilline, céfazoline, céfotaxime, céfoxitine, amikacine, gentamicine, ciprofloxacine, chloramphénicol, triméthoprim/sulfaméthoxazole.

2. La cytologie endométriale :

Les cellules endométriales ont été obtenues en utilisant la cytobrosse. Cette dernière a été guidée par une assistance manuelle transvaginale à travers le col de l'utérus et un échantillon de cellules a été prélevé dans le corps utérin.

La cytobrosse a été immédiatement étalée sur une lame (propre, sèche, et essuyée par un papier), puis séchée à l'air, fixée avec un spray fixateur, et colorée avec Diff-Quick (SHANDON, KWIK-DIFF™, Kit cat No.9990700, 500mL/16oz), qui est une variante commerciale de coloration de Romanowsky utilisée pour colorer et différencier rapidement une variété d'échantillons pathologiques comme les frottis cytopathologiques. Le colorant contient 3 solutions, le premier étant le réactif de fixation, le 2^{ème} est une solution éosinophile, et le dernier est un colorant thiazinique basophile. Les lames sont trempées plusieurs fois dans les 3 solutions par ordre du premier au dernier. Elles sont séchées une deuxième fois avec un papier buvard, puis évaluée par microscopie optique. Afin d'évaluer l'inflammation sous un grossissement de 400x.

Le nombre de neutrophiles polymorphonucléaires (PMN) a été compté dans 10 champs de vision différents, choisis au hasard, en utilisant la microscopie optique à un grossissement de 400. En accord avec un schéma modifié de **Prieto et al., (2012)**, l'endométrite aiguë a été définie comme ayant > 5 PMN sur l'ensemble.

Ce grossissement permet d'avoir une idée globale sur le frottis, les cellules présentes sont (les cellules endométriales, les globules rouges, les spermatozoïdes, les cellules inflammatoires dont les PMN).



Photo 06 : Colorant diff quick (photo personnelle).

3. Le prélèvement sanguin :

Immédiatement après chaque prélèvement, un échantillon de sang a été prélevé de la veine jugulaire droite ou gauche dans deux tubes, le premier contenait de l'EDTA et le 2^{ème} de l'héparine comme anticoagulant. Les tubes ont été immédiatement placés sur de la glace et emmenés au laboratoire de biochimie.

Pour le tube contenant l'EDTA (tube avec bouchon violet), une éventuelle FNS a été effectuée dans l'automate (MINDRAY BC-265380).

Le tube contenant de l'héparine (tube avec bouchon vert), le plasma a été séparé dans une centrifugeuse (MIKRO 220), pour faire le dosage des protéines totales sanguines, et la mesure des concentrations de P4 (Cobas 6000).

4. La biopsie utérine :

Une pince à crocodile pour biopsie utérine pour jument stérile a été passée à travers le col de l'utérus, guidée par une palpation manuelle transvaginale, et un morceau d'endomètre (environ 10 × 5 × 5 mm) a été prélevé dans la partie antérieure du corps utérin.

Le morceau prélevé a été conservé dans du formaldéhyde (solution de formaldéhyde à 10%) à 5 C jusqu'à l'analyse histologique qui a été faite au niveau de l'ISV de Tiaret. Le formol permet de fixer le prélèvement.

Après la fixation, le prélèvement a été passé à l'étape de l'amincissement, qui permet de réaliser une cassette et aussi d'orienter les tissus. La cassette est perforée (pour l'infiltration des solutions), permet l'adaptation au microtome, l'identification, et éviter le mélange des tissus. Les tissus ont été traités, cette étape nécessite la présence d'un automate.

L'automate contient :

12 Compartiments, 10 en verres et 2 bains métalliques (contenant la paraffine).

Les 12 bains sont constitués de :

- 2 bains de formol à 10% (1h dans chaque bain) permet la fixation du tissu.
- Les bains d'alcool à concentration par ordre croissant :

70° (1h30), 80° (1h30), 90°(1h30), 100° qui contient 3 bains (chaque bain pendant 1 heure)

L'alcool permet la déshydratation des tissus

- 2 bains de xylène (1h30/bain) permettant la clarification.
- 2 bains de paraffine à 56°C (2h/bain) ; cette étape est l'inclusion en paraffine.

Le traitement des tissus dure 16h30. L'étape d'après est la confection du bloc qui nécessite une station d'inclusion :

Cette station d'inclusion contient 2 unités :

- **Une unité chaude :**

Qui elle-même contient 3 parties :

- 1- Partie ou faire fondre la paraffine.

- 2- Une partie où mettre le moule métallique qui doit être chaud.
- 3- Une partie froide dans le côté chaud pour nous aider à orienter les tissus.

- **Une unité froide :**

Où le bloc de paraffine (paraffine +cassette +tissu) a été posé. Cette unité va faciliter le démoulage du bloc.

Le bloc doit être Découpé au microtome

Le microtome a été réglé à 5 µm et un bain MARIE à 45°C a été préparé.

Avec le microtome des rubans ont été préparés qui vont être étalés dans le bain marie et séchés dans une étuve à 56°C/24H après les avoir mis dans des lames en verre.

Après toutes ces procédures, les lames ont été colorées :

Coloration standard HE :

- **Déparaffinage :** dans un bain de xylène pendant 5 mn (paraffine de surface).
- **Réhydratation :** passage dans plusieurs bains d'alcool décroissants de 100%, 95%, 80%, 75%, chaque bain pendant 5 mn.

- **Coloration à HE :**

1. **Hématoxyline :** qui est un colorant basique qui colore tout ce qui est acide (NOYAU) en violet, pendant 15-20 mn, rinçage, et trompage dans l'acide alcool puis un autre rinçage.
2. **Eosine :** colorant acide qui colore tout ce qui est basique (cytoplasme) en rose pendant 20mn, puis rinçage.

Conservation des lames :

- Réhydratation : dans des bains d'alcool croissants de 70% à 100%, 5 mn chacun
- Clarification : bain de xylène pendant 5 mn
- Montage : baume de canada + lamelles et laisser coller.

Les lames ont été examinées au microscope optique à un grossissement de 40 à 400 pour détecter la présence de cellules inflammatoires dans l'épithélium luminal, le stratum compactum et le stratum spongiosum.

Les sections colorées à l'HE ont été examinées pour détecter les lacunes lymphatiques et les angiopathies, et ont été utilisées pour catégoriser l'endomètre des juments en I, IIA, IIB ou III, selon Kenney et Doig (**Van Camp, 1988**).



Photo 07 : Pince à biopsie utérine pour jument (photo personnelle).

C. Le traitement des juments :

Après avoir lavé la région périnéale comme pour l'IA et le lavage à faible volume pour la microbiologie :

- Le traitement principal des juments qui avaient une accumulation de liquides intra-utérins > 20 mm à l'image échographique a été basé sur le lavage utérin avec les solutions cristalloïdes telles que la Solution de Ringer Lactate (LRS) ou le sérum physiologique à 0,9 %. Deux flacons ont été réchauffés à 38°C et injectés dans le corps de l'utérus avec une sonde stérile guidée manuellement, puis récupération du liquide par gravité.
- L'injection d'un agent ecbolique tel que l'ocytocine et la PGF2 α ont été effectués pour stimuler les contractions utérines et aider les juments à évacuer le reste des liquides.
- Un contrôle par échographie a été effectué après cette opération pour voir l'échogénicité et le liquide présent. Si l'état de l'utérus est bon (pas de liquides et de débris), les juments suivront leur activité folliculaire. Dans le cas contraire, le lavage utérin va être effectué et une infusion utérine avec un antibiotique sera faite.
- L'infusion utérine a été réaliser en utilisant un antibiotique de la famille des β -lactamines associé à un anesthésique local « pénicilline procaine » PENIKEL 300®, dilué dans 60 ml de Ringer Lactate, et injecté dans le corps de l'utérus avec une paille d'insémination artificielle stérile.



Photo 08 : Matériel de lavage utérin et infusion utérine avec l'antibiotique (photo personnelle).

- L'autre technique de traitement a été l'infusion utérine au miel (80% miel+ 20% eau physiologique) dont 48ml de miel+ 12 ml d'eau physiologique.

Tableau 08 : Informations sur le miel.

Nom Scientifique	Euphorbia
Origine	Euphorbe
Région de récolte	Wilaya de Laghouat, Algérie
Date de récolte	2020

Le miel a été infusé chez 2 juments de cette étude au lieu de l'infusion aux antibiotiques, après culture bactérienne et test de sensibilité aux antibiotiques qui a montré une antibiorésistance aux antibiotiques testés.



Photo 09 : Dilution du miel dans de l'eau physiologique (photo personnelle)

Résultats

I. Taux de gestation et fertilité :

L'étude a été effectuée sur un total de 160 juments qui ont fait l'objet de suivi de la reproduction durant toute la période d'étude. Nous avons ciblé seulement 18 juments qui répondaient aux objets de l'étude jusqu'à la fin du travail. Nous avons constaté les résultats suivants :

Tableau 09 : Taux de gestation et fertilité en fonction du nombre de cycles chez les 18 juments. (Tests du Khi-deux).

		Nombre de cycles			Total	
		1ier cycle	Négative	Pas au 1ier		
Gestation	Négative	Effectif	0	10	0	10
		% dans gestation	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
		% dans nombre de cycles	0,0%	100,0%	0,0%	55,6%
		% du total	0,0%	55,6%	0,0%	55,6%
	Positive	Effectif	3	0	5	8
		% dans gestation	37,5%	0,0%	62,5%	100,0%
		% dans nombre de cycles	100,0%	0,0%	100,0%	44,4%
		% du total	16,7%	0,0%	27,8%	44,4%
Total	Effectif	3	10	5	18	
	% dans gestation	16,7%	55,6%	27,8%	100,0%	
	% dans nombre de cycles	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% du total	16,7%	55,6%	27,8%	100,0%	

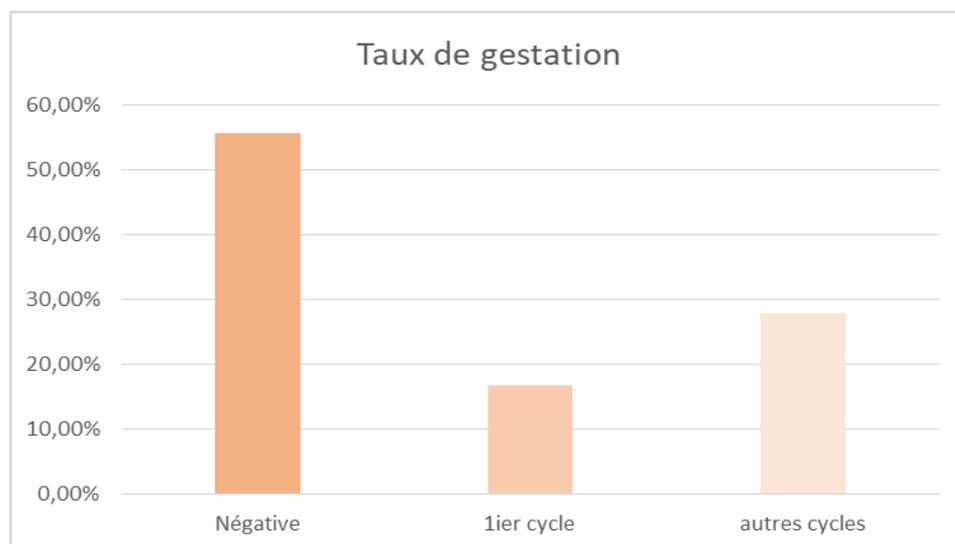
Dans ce travail nous avons remarqué que dans les 18 juments étudiées, 10 juments ont été vides et n'ont pas conçu, représentant un taux de 55.6%. Seulement 8 juments ont été gestantes avec un taux de 44.6%. Parmi ces 8 juments, 3 ont conçu au premier cycle avec un taux de 16.7%, et 5 juments dans les autres cycles représentant un taux de 27.8%.

Parmi, les 10 juments qui n'ont pas conçu 3 ont été diagnostiquées PBIE positive.

- Un taux de PBIE de 16.66% a été constaté après avoir étudié les 18 juments.
- Un taux de 30%, parmi les 10 qui n'ont pas conçu.

Ces résultats montrent un faible taux de fertilité. Le taux de gestation été bas également chez le reste des 142 juments qui ont été suivies par échographie jusqu'à la fin de chaque saison, mais n'ont pas subis les différents examens de la recherche.

Le taux de gestation est représenté dans le graph ci-dessous :



Graph 01 : Le taux de gestation chez les 18 juments étudiées.

II. Examen échographique :

L'œdème utérin a été évalué visuellement à l'aide d'un échographe, coupe transversale des deux cornes et le corps utérin, fréquence 5 à 7 MHz tout en mesurant l'accumulation des liquides avec l'échographe pour pouvoir classer le score de la PBIE.

La surface de l'IUF a été mesurée avec le même échographe (Sonoscape A6), la présence de débris dans les liquides accumulés, ainsi que les kystes utérins ont été également notés. Nous avons trouvé la présence de fluides 48 heures après la saillie seulement chez 5 juments, ce qui représente un taux de PBIE de (27.8%) dans cette étude. Le reste des juments ne présentait pas d'œdème.

Tableau 10 : Examen échographique des juments présentant un œdème utérin de degré 0 à 3, et la localisation des IUF au niveau utérin.

Jument	1	2	3	4	5
Degré des IUF	3	1	2	2	2
Localisation	Cornes utérines + corps utérin	Corps utérin	Cornes utérines	Corps utérin	Corps utérin

La plupart des juments ont développé une PBIE modérée de score 2.

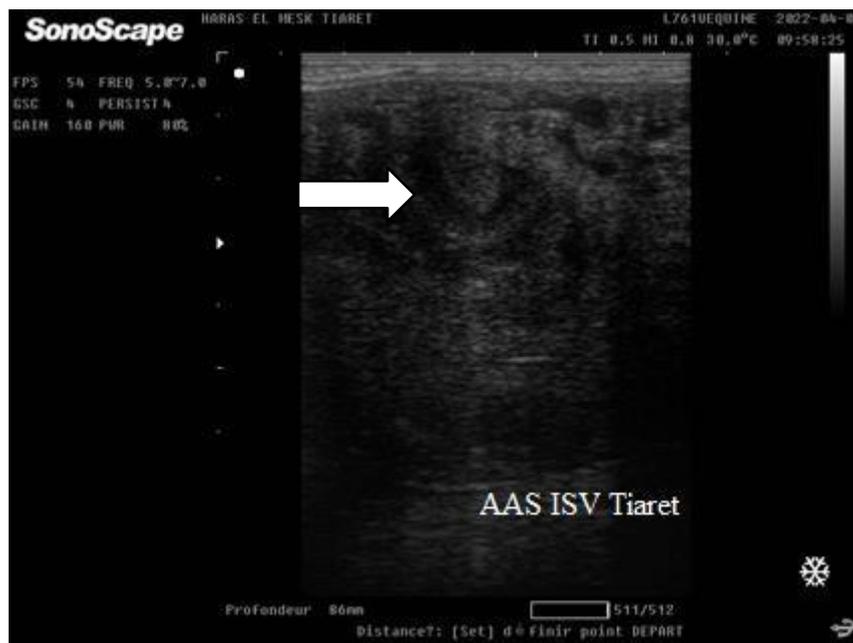


Figure 19 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument représentant un œdème utérin physiologique avec un signe de chaleurs (tranche d'orange). Classification des degrés des IUF (degré 0). (Photo personnelle).



Figure 20: Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument représentant une accumulation légère des liquides dans la corne utérine <20 mm. Classification des degrés des IUF (degré 1). (Photo personnelle).

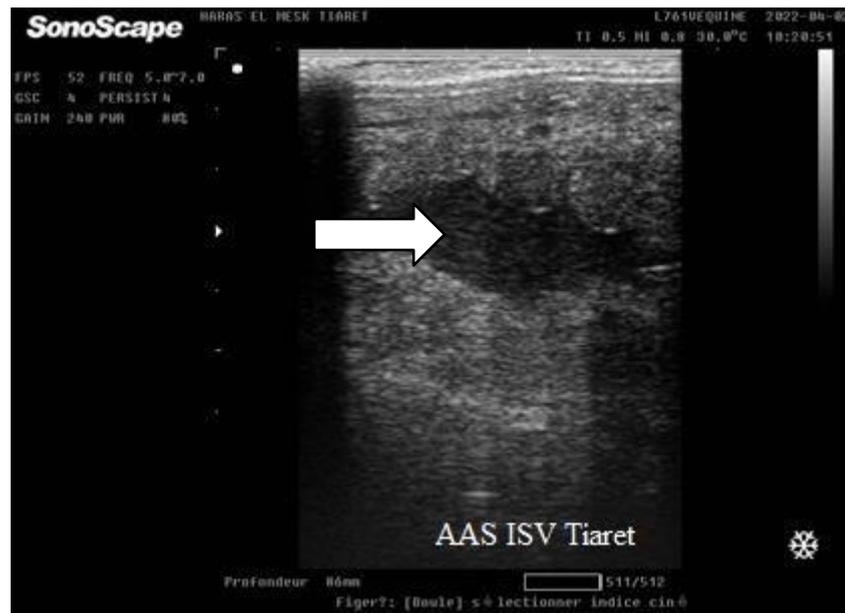


Figure 21 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument, représentant une accumulation modérée des liquides dans la corne utérine ≥ 20 mm. . Classification des degrés des IUF (degré 2). (Photo personnelle).



Figure 22 : Coupe transversale d'une corne utérine d'une jument, représentant une accumulation sévère des liquides dans la corne utérine > 20 mm. . Classification des degrés des IUF (degré 3). (Photo personnelle).



Figure 23 : Coupe transversale d’une corne utérine d’une jument, représentant un kyste utérin. (Photo personnelle).

III. La microbiologie :

A. Les germes présents durant les phases de prélèvements :

Nous avons remarqué que durant le premier et le dernier prélèvement chez les 18 juments, seulement 38,9% ont montré une présence de bactéries. Ce qui n’a pas été le cas lors du 2^{ème} prélèvement ou 61,1% des juments ont été positives. Avec un taux de positivité de 46,3% au total.

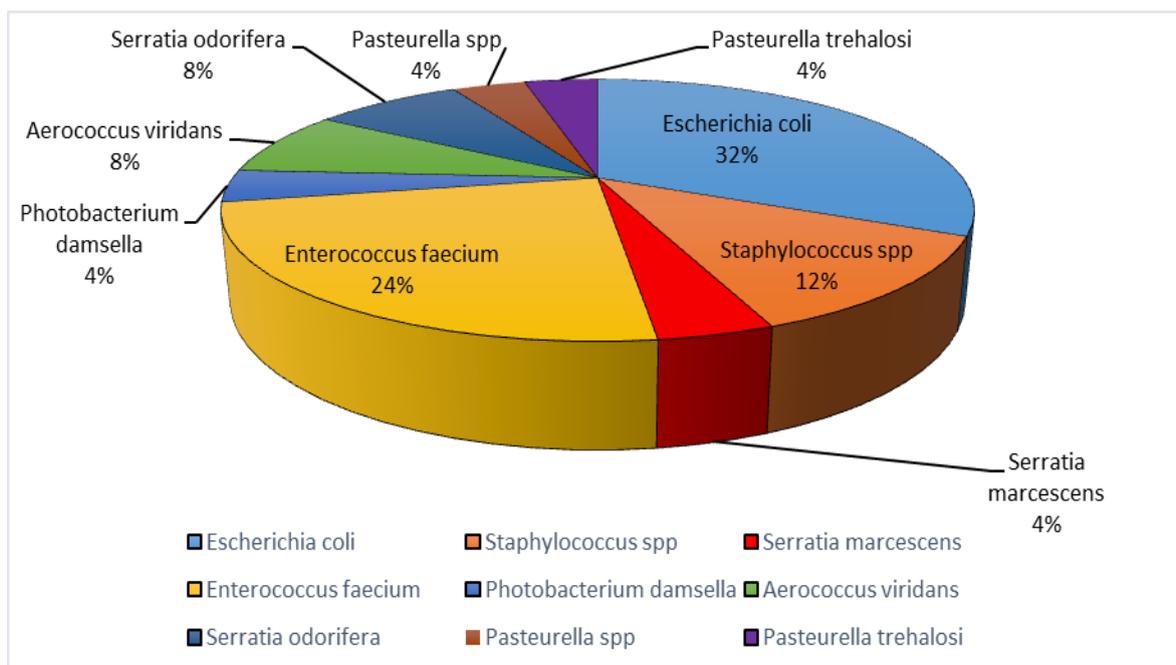
Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11 : Présence des différents microorganismes après culture dans les différentes phases de prélèvements (Test du Khi-deux).

		Prélèvement			Total	
		P1/24h	P2/6h	P3/48h		
Résultat	-	Effectif	11	7	11	29
		% dans résultat	37,9%	24,1%	37,9%	100,0%
		% dans prélèvement	61,1%	38,9%	61,1%	53,7%
		% du total	20,4%	13,0%	20,4%	53,7%
	+	Effectif	7	11	7	25
		% dans résultat	28,0%	44,0%	28,0%	100,0%
		% dans prélèvement	38,9%	61,1%	38,9%	46,3%
		% du total	13,0%	20,4%	13,0%	46,3%
Total	Effectif	18	18	18	54	
	% dans résultat	33,3%	33,3%	33,3%	100,0%	
	% dans prélèvement	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% du total	33,3%	33,3%	33,3%	100,0%	

B. Les espèces isolées :

La plupart des espèces isolées dans la culture bactérienne ont été *Escherichia coli* avec un taux de 32%, puis *Enterococcus faecium* 24%, *Staphylococcus spp* 12%, *Serratia odorifera* et *Aerococcus viridans* 8%, et finalement, *Serratia marcescens*, *Photobacterium damsella*, *Pasteurella spp*, *Pasteurella trehalosi* 4%.



Graph 02 : Diagramme circulaire des espèces bactériennes isolées.

C. Test de sensibilité aux antibiotiques et traitement :

L'antibiogramme et le traitement par perfusion utérine d'antibiotiques n'ont été effectués que si les résultats microbiologiques ont été positifs et les bactéries sont pathogènes pour les trois échantillons ou si la cytologie, la microbiologie et l'examen échographique ont été positifs (>5 PMN et >20mm de liquide utérin) pour le troisième échantillon.

Le test de sensibilité aux antibiotiques a été effectué chez 3 juments, les résultats de ce dernier est représenté ci-dessous :

Cas 01 : Une jument qui a présenté une cytologie positive, des IUF>20mm, et une microbiologie positive (*Escherichia coli*).

Tableau 12 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de PBIE d'origine infectieuse (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat
Cefotaxime 30µg	Sensible
Cefoxitine 30µg	Résistant
Ceftazidine 30mg	Sensible
Gentamicine 10 µg	Sensible
Chloramphénicol 30mg	Sensible
Colistine 50 µg	Résistant
Pénicilline 10 UI	Sensible

La jument a été ensuite traitée par infusion utérine à la pénicilline (Penikel 300®) jusqu'au cycle prochain ou elle a été prête pour la saillie.

Cas 02 : Une jument qui a présenté une culture bactérienne positive dans les 3 prélèvements (*Staphylococcus spp*)

Tableau 13 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de *Staphylococcus spp*.

Antibiotique	Résultat
Pénicilline G 10 UI	Résistant
Kanamycine 1000 µg	Sensible
Erythromycine 15 mg	Résistant
Gentamicine 10 µg	Résistant
Chloramphénicol 30mg	Sensible
Oxacilline 5µg	Résistant
Amikacine 30 mg	Sensible

La jument n'a pas été traitée par infusion utérine aux antibiotiques mais au miel.

Cas 03 : Une jument qui a présenté une cytologie positive, des IUF>20mm, et une microbiologie positive (*Pasteurella spp*).

Tableau 14 : Test de sensibilité aux antibiotiques chez une jument atteinte de PBIE d'origine infectieuse (*Pasteurella spp*).

Antibiotique	Résultat
Gentamicine 10 µg	Résistant
Céfotaxime 30µg	Résistant
Ceftazidime 30 mg	Résistant
Amikacine 30 mg	Résistant

La jument n'a pas été traitée par infusion utérine aux antibiotiques mais au miel.

IV. La cytologie endométriale :

Dans cet examen effectué, nous avons noté la présence des PMN durant le premier prélèvement (24h avant la saillie) uniquement chez 3 juments avec un taux de 12%, en général on trouvait des cellules endométriales regroupées en amas alors qu'après 6h de la saillie représentant le 2^{ème} prélèvement toutes les juments avaient une présence des PMN (100%), avec plus de 5 PMN présents. Les lames contenaient des cellules endométriales en amas, et beaucoup de cellules inflammatoires (PMN), des spermatozoïdes, et parfois la présence de bactéries. Et finalement, dans les prélèvements 48h post-saillie/IA, les PMN disparaissaient dans la plupart des cas. Sauf pour les juments qui avaient une présence de liquides au niveau utérin avec un score ≥ 2 (4 juments).

Le tableau ci-dessous représente le taux des PMN durant les 3 périodes de prélèvements :

Tableau 15 : Tableau récapitulatif présentant les résultats de la cytologie endométriale chez les 18 juments (Tests du Khi-deux).

			Prélèvement			Total
			P1/24h	P2/6h	P3/48h	
Statut inflammatoire	-	Effectif	15	0	14	29
		% dans statut	51,7%	0,0%	48,3%	100,0%
		% dans p	83,3%	0,0%	77,8%	53,7%
		% du total	27,8%	0,0%	25,9%	53,7%
	+	Effectif	3	18	4	25
		% dans statut	12,0%	72,0%	16,0%	100,0%
		% dans p	16,7%	100,0%	22,2%	46,3%
		% du total	5,6%	33,3%	7,4%	46,3%
Total		Effectif	18	18	18	54
		% dans statut	33,3%	33,3%	33,3%	100,0%
		% dans p	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% du total	33,3%	33,3%	33,3%	100,0%

Les figures ci-dessous représentent les prélèvements cytologiques effectués à l'aide de la cytobrosse durant les différentes phases de prélèvements :

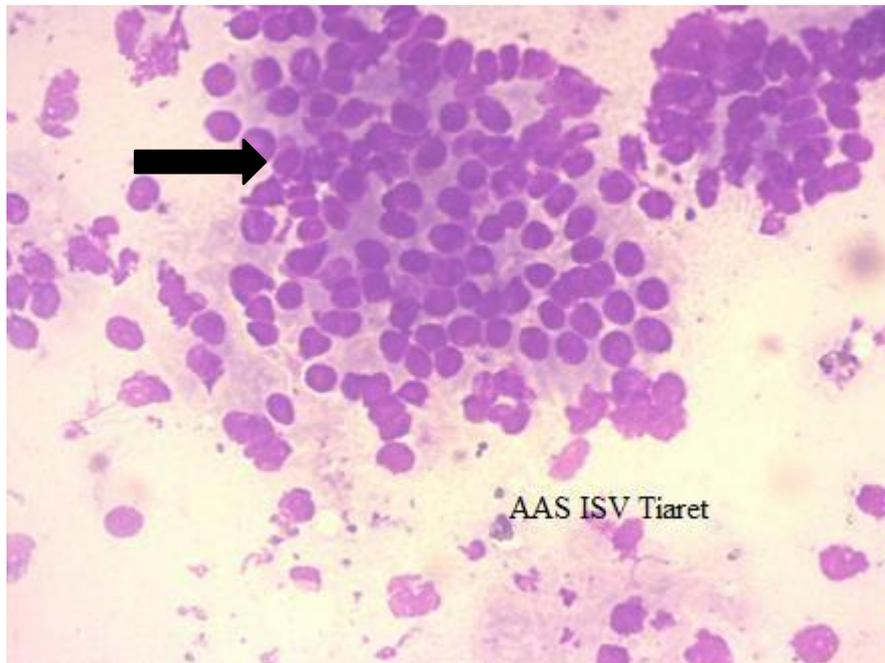


Figure 24 : Prélèvement 24 h avant la saillie/IA avec une cytobrosse, présence des cellules endométriales en amas colorées avec le Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).

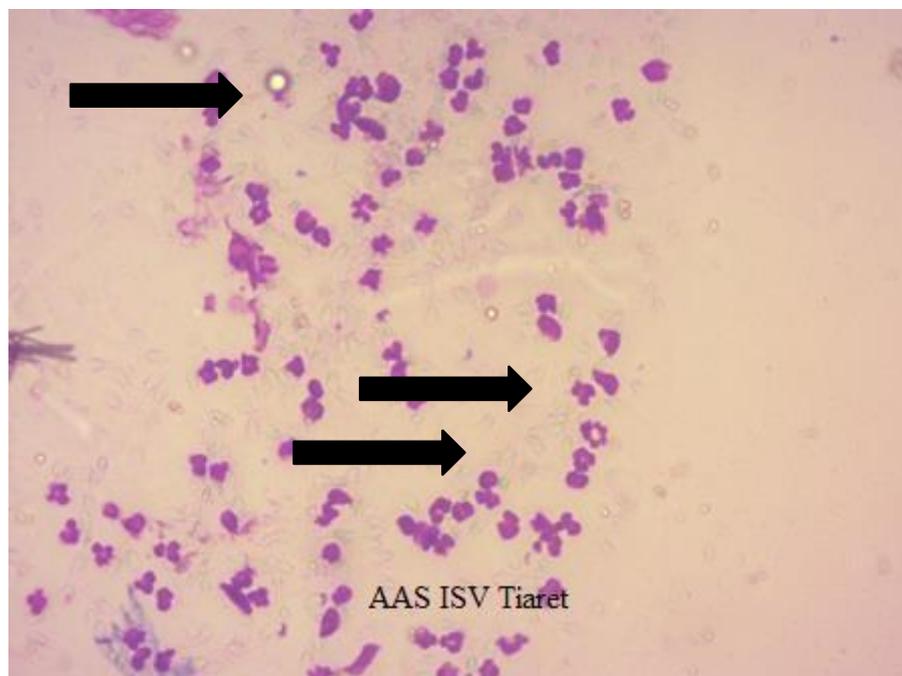


Figure 25 : Prélèvement 6 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence des cellules endométriales dispersées, des cellules inflammatoires PMN >5 par champ, des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).

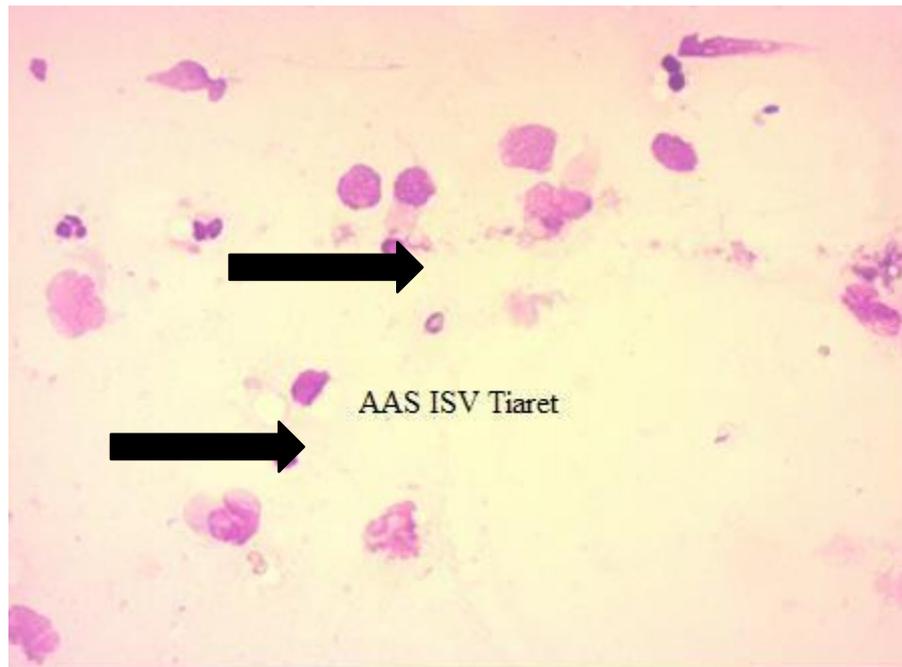


Figure 26 : Prélèvement 48 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence de quelques cellules endométriales dispersées, de quelques cellules inflammatoires PMN < 5, disparition des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).

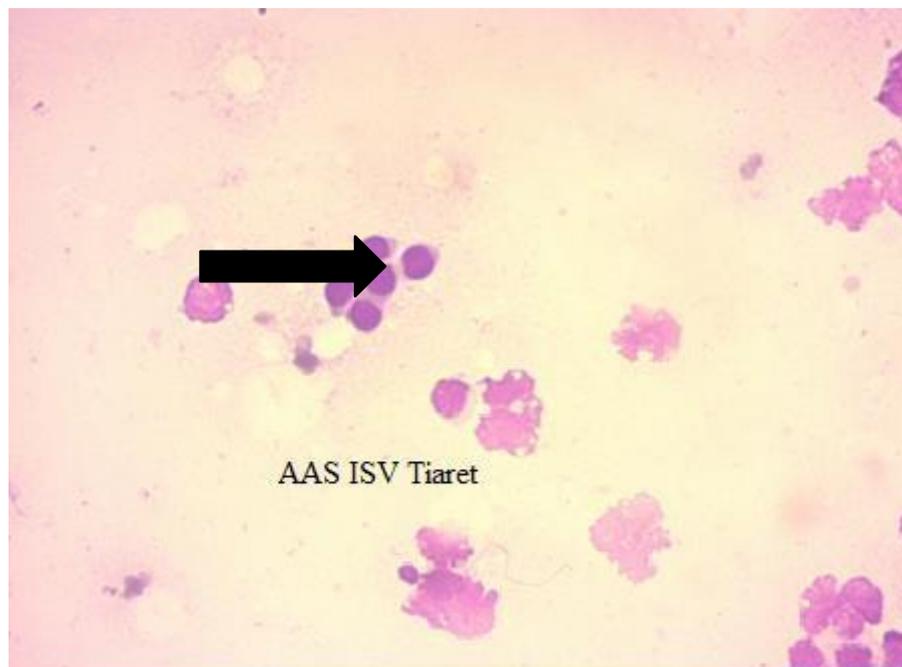


Figure 27 : Prélèvement 48 h après la saillie/IA avec une cytobrosse, présence de quelques cellules endométriales dispersées, disparition des cellules inflammatoires, élimination des spermatozoïdes, coloration Diff-Quick, grossissement×400. (Photo personnelle).

V. Le dosage sanguin :

A. Dosage de progestérone :

Dans notre étude, la concentration plasmatique de P4 a été inférieure à 1 ng/mL dans les 3 prélèvements, avec une moyenne de 0.58 ng/ml dans le premier prélèvement, et de 0.59 ng/ml dans le deuxième prélèvement, et une valeur de 0.93 ng/ml dans le dernier, mais tout en restant dans l'énorme. La valeur maximale de la P4 a été 4ng/ml, et la valeur minimale a été de 0.05ng/ml.

Nous avons remarqué que le niveau de progestérone a augmenté au cours des différentes phases de collecte, mais n'a jamais dépassé la valeur de 1 ng/ml dans les 3 prélèvements.

Tableau 16 : Taux de progestérone plasmatique durant les 3 prélèvements chez les 18 juments (Test ANOVA).

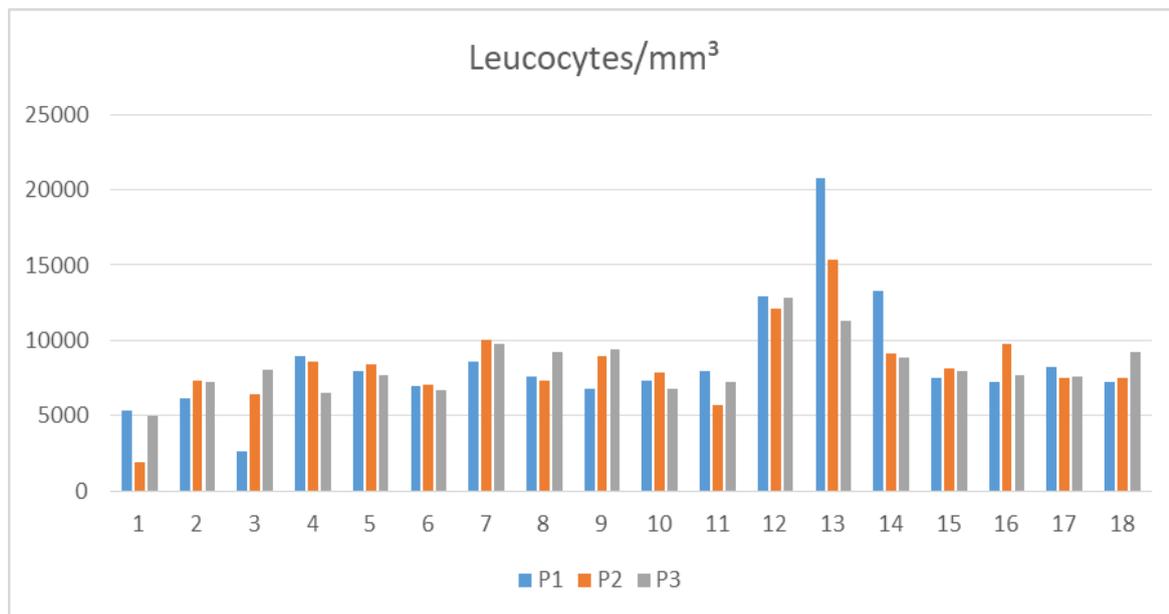
Prélevement	N	Moyenne	Ecart type	Erreur standard	Minimum	Maximum	Sig.
Avant 24h	18	0,5811	0,9261	0,2183	0,0500	3,6400	0,5198
Après 6h	17	0,5906	0,8124	0,1970	0,0500	2,8100	
Après 48h	18	0,9322	1,2997	0,3064	0,0500	4,0000	
Total	53	0,7034	1,0311	0,1416	0,0500	4,0000	

B. Hématologie et biochimie :

1. Les leucocytes :

Les résultats ont montré que dans les 54 échantillons effectués pour les 18 juments pendant les 3 différentes phases de prélèvement que 48 échantillons ont été normaux alors que seulement 6 n'ont pas été dans l'intervalle des valeurs usuelles, avec une valeur maximale de 20740 leucocytes / mm³, et une valeur minimale de 1930 leucocytes/mm³.

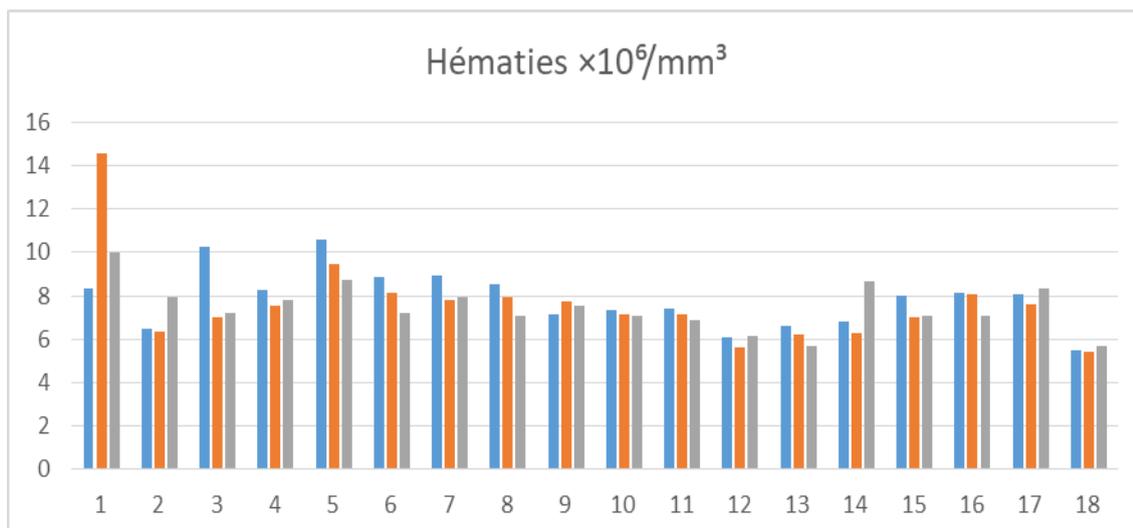
Graph 03 : Résultats d’FNS pour les leucocytes chez les 18 juments durant les 3 prélèvements.



2. Les hématies :

Nous avons trouvé que dans les hématies, 41 prélèvements sont normaux, et 13 ne le sont pas. Une valeur maximale de $14.54 \text{ Hb} \times 10^6/\text{mm}^3$, et une valeur minimale de $5.40 \text{ Hb} \times 10^6/\text{mm}^3$.

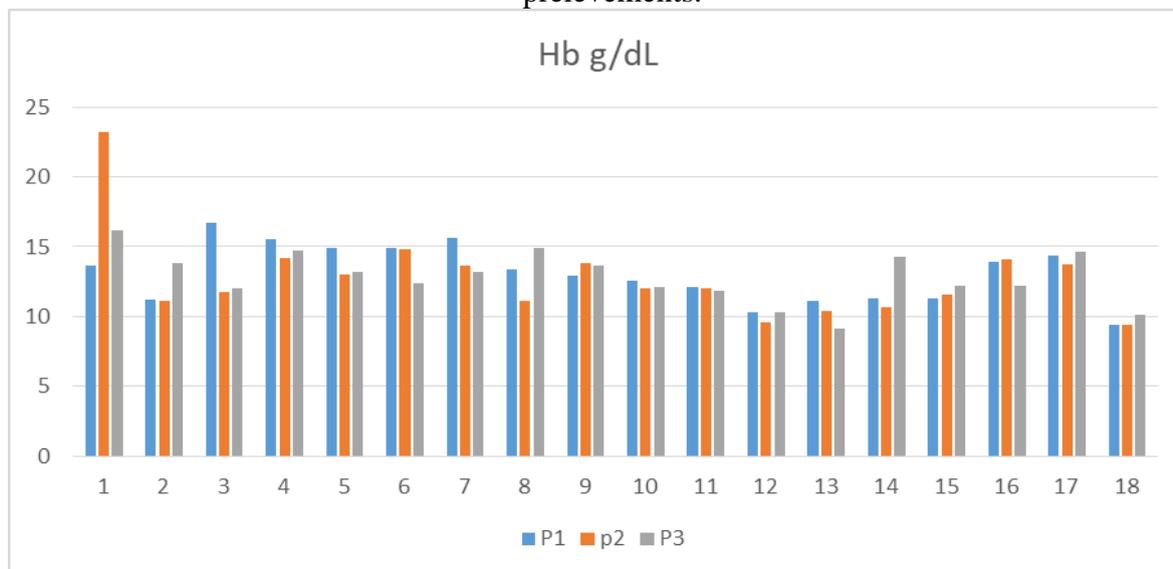
Graph 04 : Résultats d’FNS pour les hématies chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



3. L'hémoglobine :

Nous avons constaté la conformité des résultats des Hb dans 44 prélèvements parmi les 54 effectués, et les 10 restants hors normes. La valeur maximale enregistrée a été 23.2 g/dl, et la valeur minimale a été 9.1 g/dl.

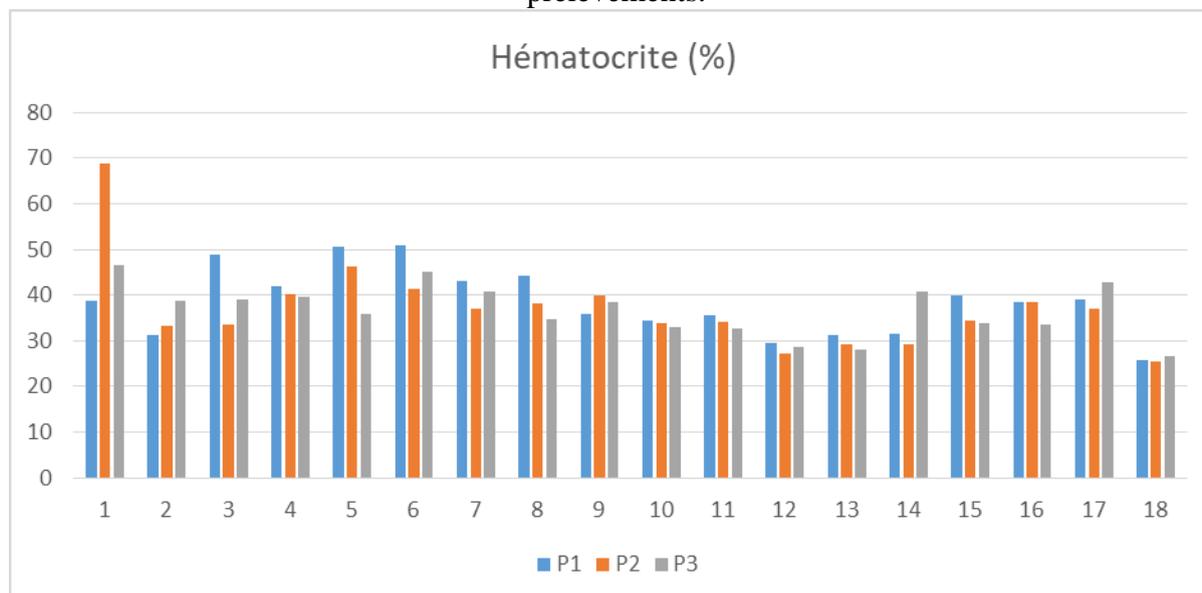
Graph 05 : Résultats d’FNS pour le taux d’hémoglobine chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



4. L'hématocrite :

Les résultats nous ont révélé que dans l'hématocrite 41 prélèvements sont dans les valeurs usuelles, et les 13 restants ne le sont pas. La valeur maximale enregistrée a été 68.8%, et la valeur minimale a été 25.5%.

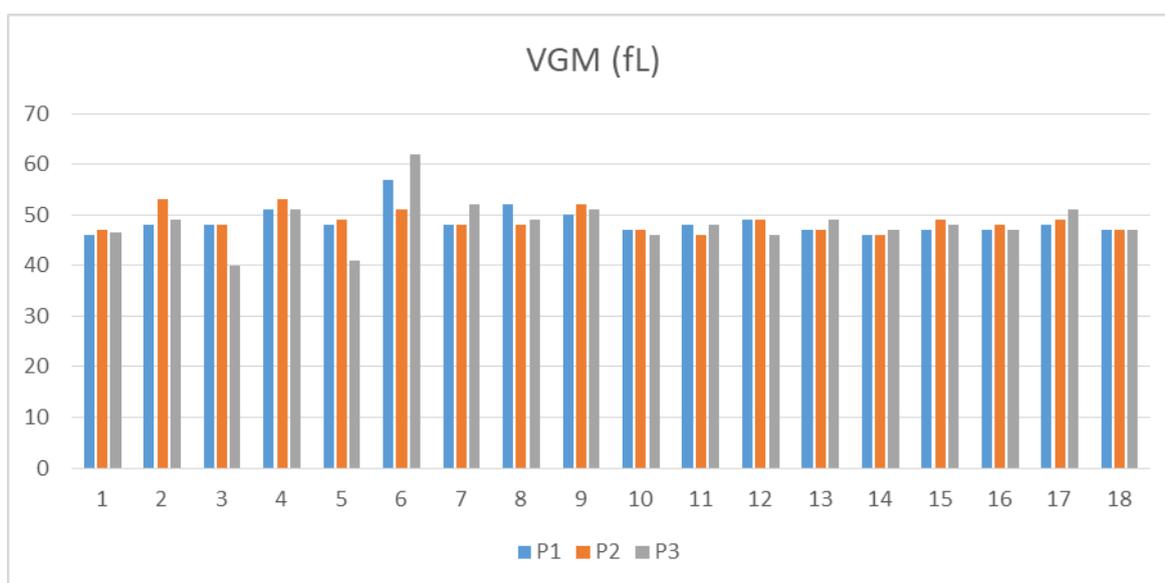
Graph 06 : Résultats d’FNS pour le taux d’hématocrite chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



5. Volume Globulaire Moyen (VGM) :

Nous avons trouvé que tous les échantillons ont été dans les valeurs usuelles du VGM, sauf 1 seul échantillon. La valeur maximale a été 62 fL, tandis que la valeur minimale a été 41 fL.

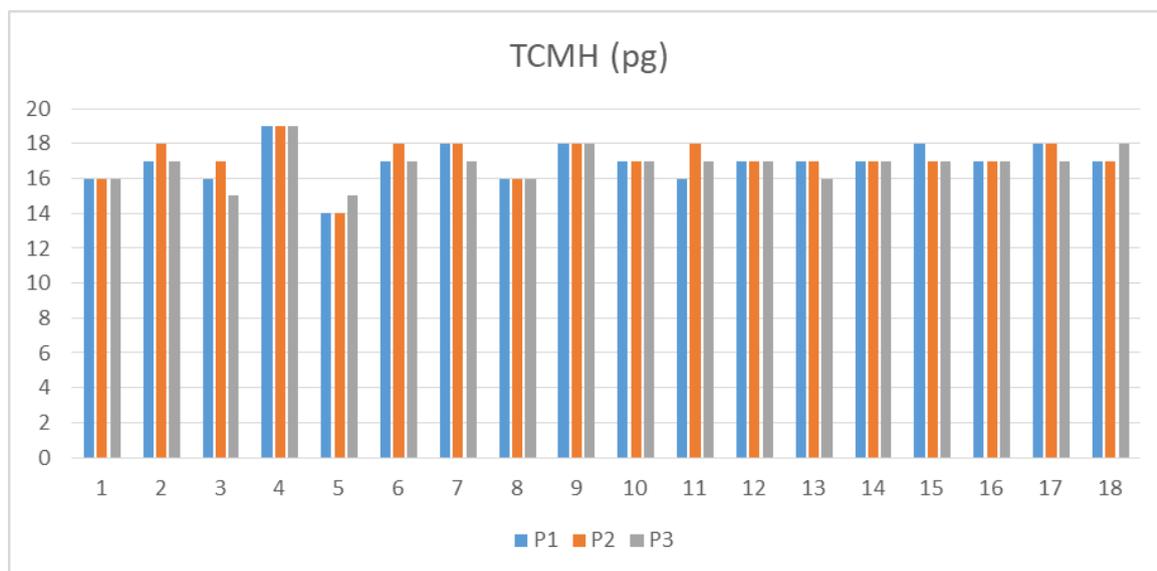
Graph 07 : Résultats d’FNS pour le VGM chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



6. Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) :

Dans ce paramètre tous les résultats ont été normaux, la valeur maximale a été 19 Pg et la valeur minimale a été 15 Pg.

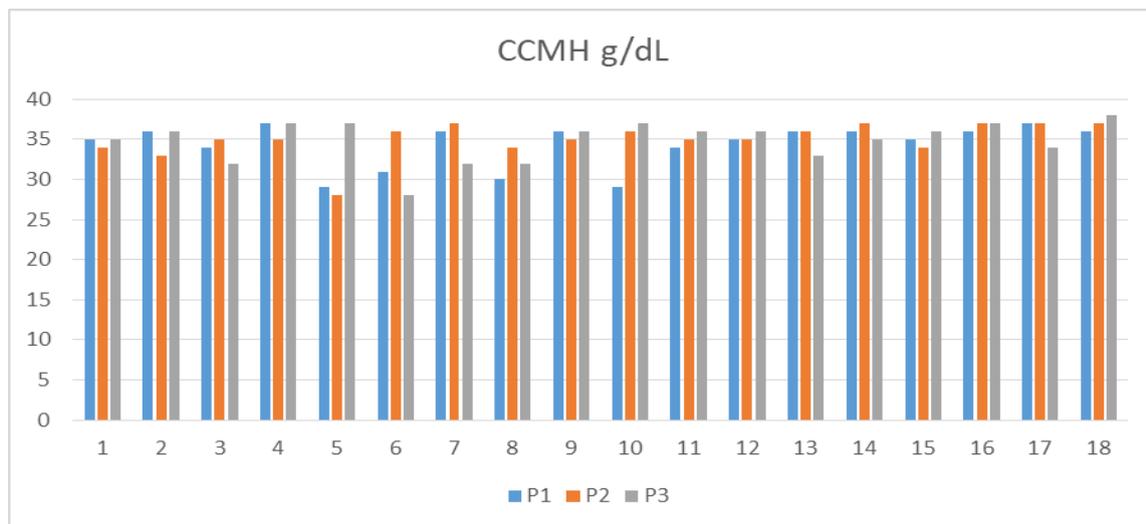
Graph 08 : Résultats d’FNS pour la TCMH chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



7. Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) :

Dans cette dernière, 49 échantillons normaux, et 5 ne l'ont pas été. Nous n'avons pas trouvé de valeur qui dépasse les valeurs usuelles, mais par contre 5 valeurs ont été au-dessous du seuil. La valeur maximale a été 38 g/dl, et la valeur minimale a été 28 g/dl.

Graph 09 : Résultats d'FNS pour la CCMH chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.

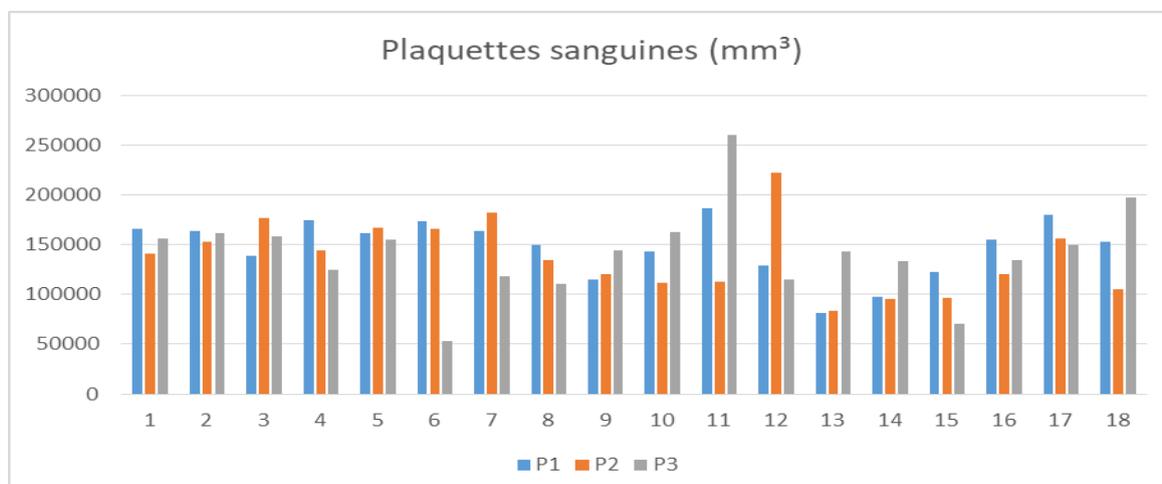


8. Les plaquettes sanguines :

Nous avons fait la même remarque que pour la CCMH dans ce paramètre, il n'y'avait pas de valeur qui dépasse le seuil, mais bien au contraire, 7 résultats n'ont pas été dans les normes.

La valeur maximale a été 260000 PLT/mm³, et la valeur minimale a été 53000 PLT/mm³.

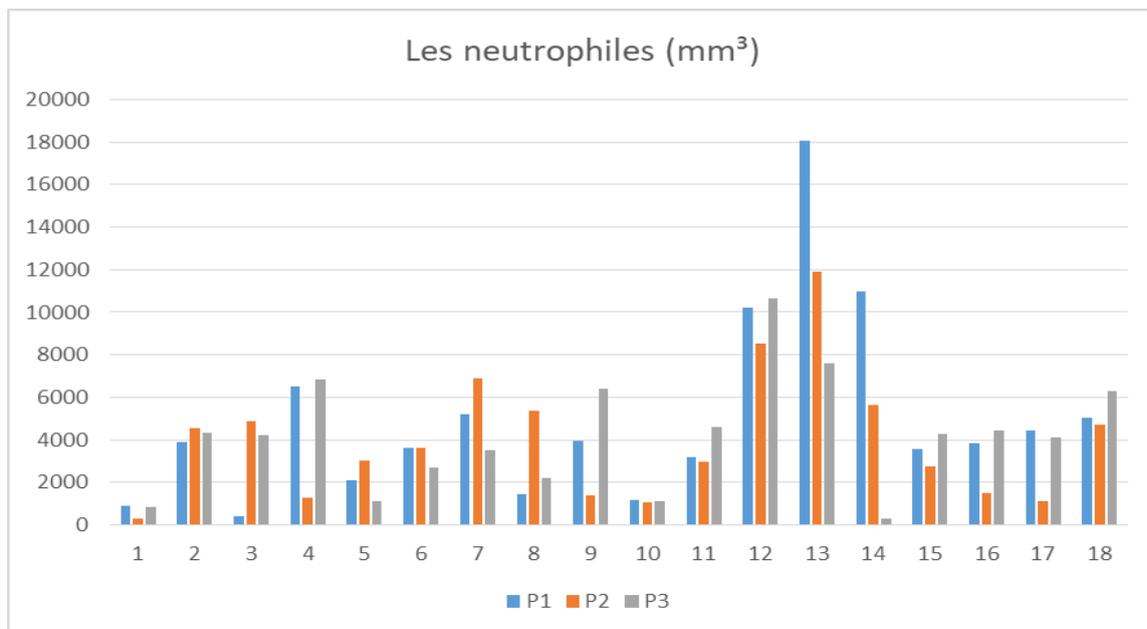
Graph 10 : Résultats d'FNS pour les plaquettes sanguines chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



9. Les neutrophiles :

Les analyses sanguines des neutrophiles ont montré que 33 échantillons ont été normaux, et 21 échantillons hors normes. La valeur maximale de ces derniers a été 18065 PMN/mm³, tandis que la valeur minimale a été 442 PMN/mm³.

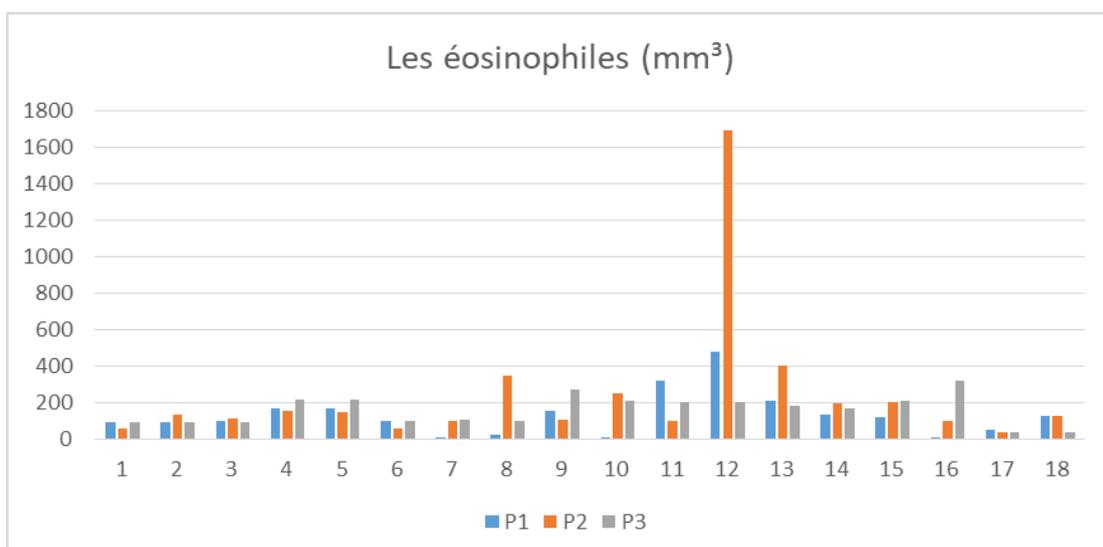
Graph 11 : Résultats d’FNS pour les neutrophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



10. Les éosinophiles :

Dans ces résultats nous avons noté un seul échantillon parmi les 53 prélevés qui est hors normes, avec une valeur maximale 1690 éosinophiles/mm³, et un taux basal de 0.4/mm³.

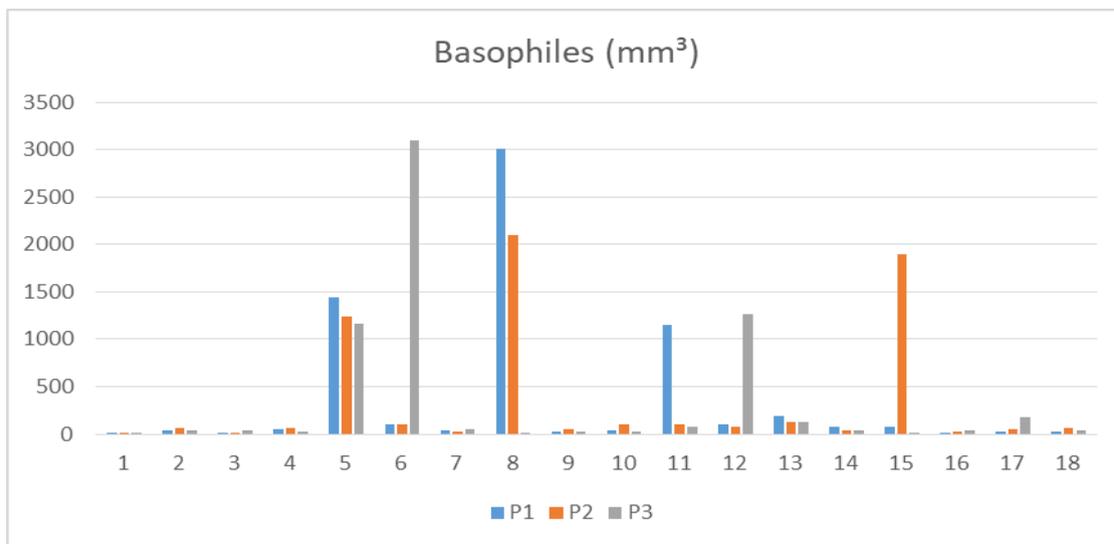
Graph 12 : Résultats d’FNS pour les éosinophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



11. Les basophiles :

Nous avons remarqué que dans ce paramètre, 45 échantillons ont été normaux, et 9 hors normes. Il n'y'a pas de valeur au-dessous des valeurs usuelles des basophiles. La valeur maximale a été 3094 basophile/mm³, et la valeur minimale a été 5 basophile/mm³.

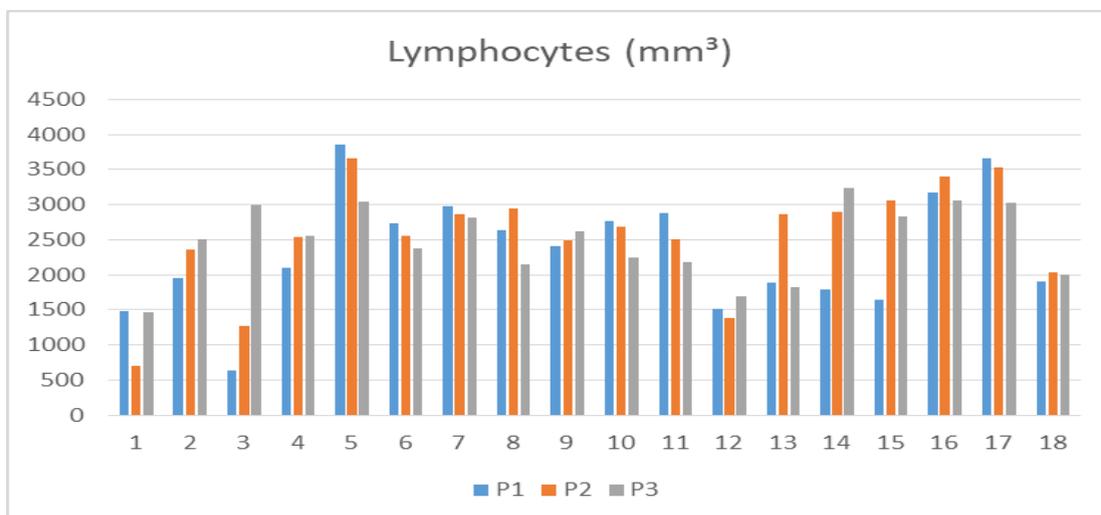
Graph 13 : Résultats d’FNS pour les basophiles chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



12. Les lymphocytes :

Dans le dosage sanguin, les basophiles des 48 échantillons ont été normaux, alors que les 6 restants ne l'ont pas été. Il n'y'avait aucune valeur au-dessus des valeurs usuelles. La valeur maximale a été 3860 basophile/mm³, et la valeur minimale 631 basophile/mm³.

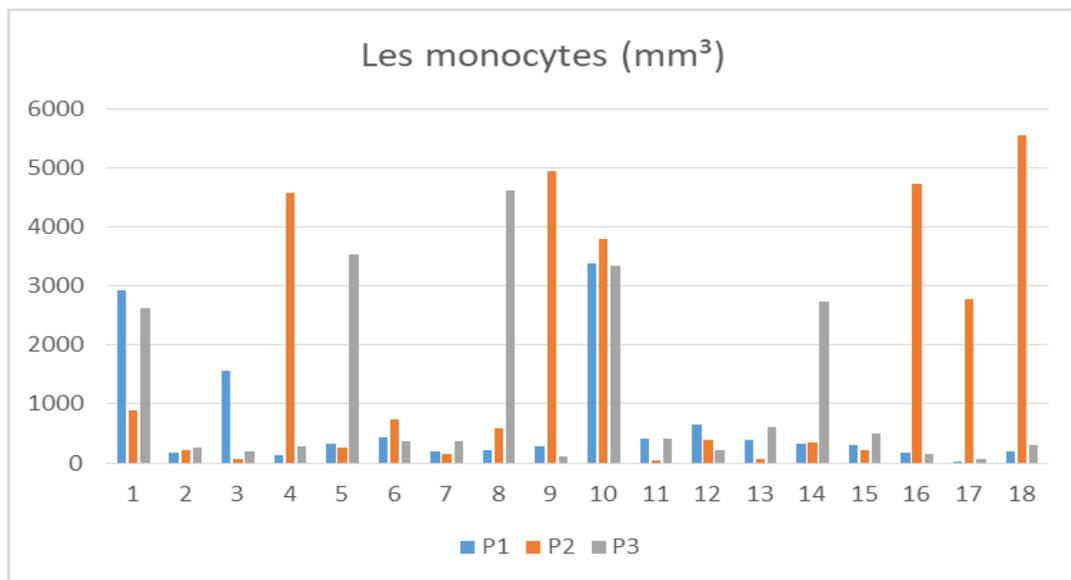
Graph 14 : Résultats d’FNS pour les lymphocytes chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



13. Les monocytes :

Dans notre cas, 40 échantillons ont été normaux, 14 n'ont pas été dans les normes. Il n'y'avait pas de valeur au-dessous des valeurs usuelles. La valeur maximale a été 5543 lymphocyte/mm³, et la valeur minimale a été 25 lymphocyte/mm³.

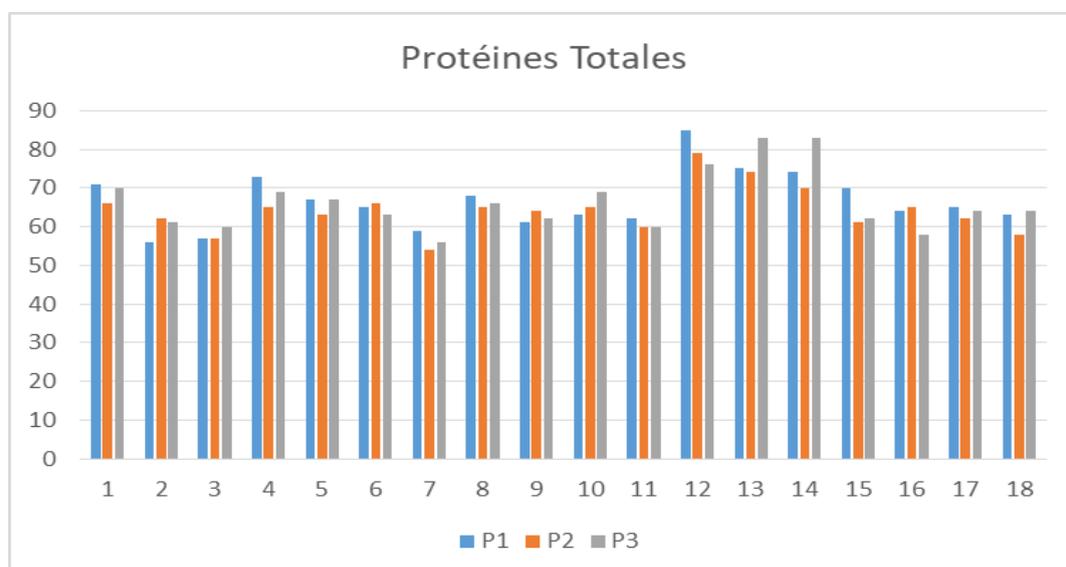
Graph 15 : Résultats d’FNS pour les monocytes chez les 18 juments dans les 3 prélèvements.



14. Les protéines totales :

Dans cette étude, 51 échantillons ont été normaux, et 3 hors normes. Il n'y'avait pas de valeur inférieure au seuil. La valeur maximale a été de 85 g/l, et la valeur minimale 56 g/l.

Graph 16 : Résultats du dosage des protéines totales sanguines.



VI. La biopsie utérine :

Dans notre cas, nous avons réalisé une biopsie utérine chez la jument dont le degré d'accumulation des liquides au niveau utérin IUF était sévère (score 3), avec une présence des PMN dans l'examen cytologique.

L'interprétation de la lame a été comme suite :

Hyperplasie glandulaire (hyper activité glandulaire), congestion + hémorragie, quelques globules blancs + inflammation et légère infiltration.

Le score de biopsie attribué selon Kenney et Doig a été **IIA**.

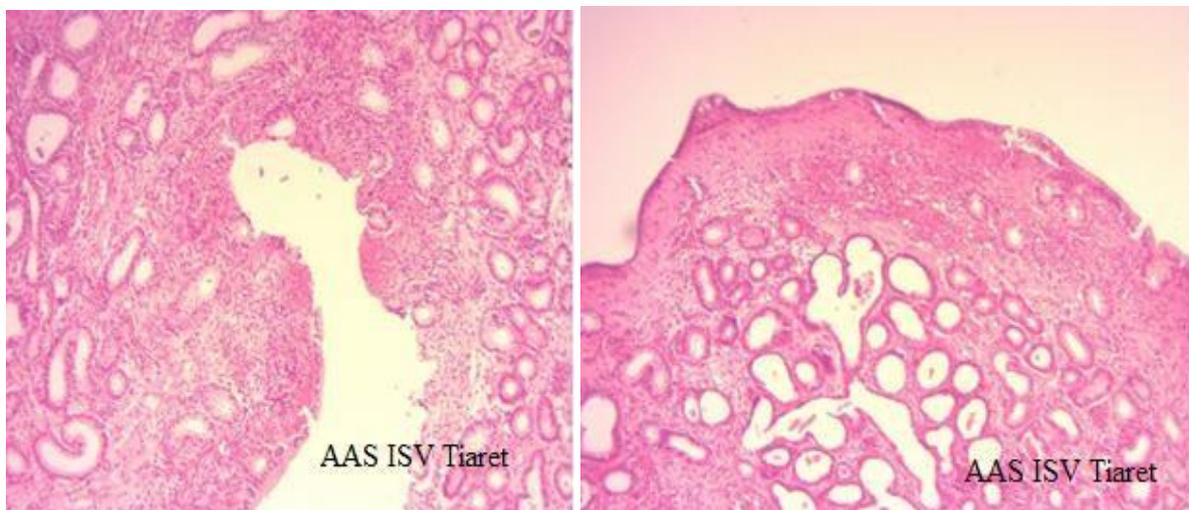


Figure 28 : Coupe histologique réalisée à partir d'une biopsie utérine d'une jument. La figure à gauche représente une érosion de l'épithélium et la présence de cellules inflammatoires. La figure à droite contient une infiltration inflammatoire, une hémorragie et un œdème. (Photos personnelles).

VII. Le traitement des juments par infusion utérine au miel :

Après la réalisation d'un antibiogramme au miel, nous avons refait cette opération 2 fois et fait la moyenne.

Ce traitement a été réalisé chez 2 juments :

- **Jument 01** : la culture bactérienne a révélé la présence de *Staphylococcus spp* dans les 3 prélèvements.
- **Jument 02** : la culture bactérienne a révélé la présence de *Pasteurella spp* durant le 3^{ème} prélèvement avec une accumulation de liquides, et une cytologie positive.

L'évaluation de l'effet inhibiteur de miel d'euphorbe testé sur les deux souches bactériennes est exprimée par le diamètre de l'auréole d'inhibition. Les résultats obtenus pour les différentes souches testées sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 17 : Moyenne de la zone d'inhibition dans les 2 espèces isolées.

	Souches testées	Diamètre de l'auréole d'inhibition (mm)
Jument 1	<i>Staphylococcus spp.</i>	13.5±1.49
Jument 2	<i>Pasteurella spp.</i>	14± 1.97

Les diamètres d'inhibition étaient de 13.5 à 14 mm respectivement pour *Staphylococcus spp.* et *Pasteurella spp.* Le miel d'Euphorbe était le plus efficace sur les deux bactéries pour la même concentration testée.

A. Résultats du traitement des juments par infusion au miel :

Les 2 juments ont été examinées par échographie.

- Après avoir vu la zone d'inhibition après antibiogramme au miel, l'infusion utérine au miel 80% (48ml miel+ 12ml eau physiologique) a été réalisée.
- 24 heures après l'infusion une présence de liquides a été notée dans l'utérus des deux juments.
- 72 heures après l'infusion, nous n'avons trouvé aucune présence de liquides au niveau utérin chez l'une des juments.
- Nous avons opté pour un lavage utérin à faible volume (120ml), une quantité de 10ml a été récupérée pour une éventuelle microbiologie chez les deux juments.
- La jument dont les liquides utérins ont disparu après l'infusion (jument 02), a révélé une microbiologie négative, ce qui est le cas contraire pour la jument dont les liquides sont restés au niveau utérin (jument 01). La culture a montré la présence des entérocoques.

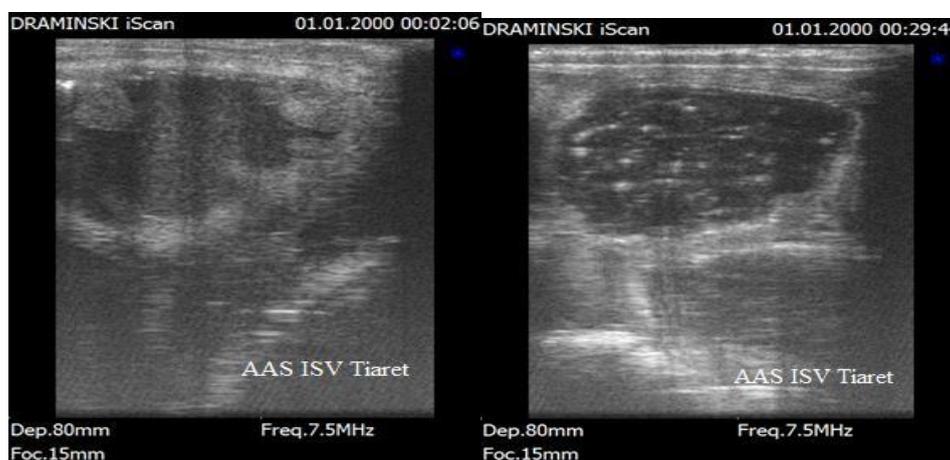


Figure 29 : Présence des liquides intra-utérins 24h après l'infusion au miel (à gauche jument 02, à droite jument 01). Echographie (Draminski iScan) (Photos personnelles).

Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS IMB 24. Les données collectées ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptive simple (valeurs maximales et minimales) pour l'hématologie et la biochimie. Ainsi qu'une analyse par le Test du Khi-deux, pour le taux de gestation et la fertilité, la microbiologie, et la cytologie, dans le but de voir la présence des paramètres qui nous oriente vers le diagnostic de la PBIE, et finalement le Test ANOVA, pour le dosage de la progestérone, pour voir le changement hormonal dans les différentes phases de prélèvement.

Discussion

I. La relation des PBIE avec la conception et la fertilité :

Parmi les principales pathologies utérines, l'endométrite, qui reste l'une des plus importantes causes d'infertilité chez la jument et représente un énorme problème dans l'industrie moderne de la reproduction (**Riddle et al., 2007**). Cette infection et/ou inflammation de l'endomètre, est la troisième maladie la plus fréquente chez les chevaux, et la première cause de stérilité chez les juments (**Traub-Dargatz et al., 1991 ; Troedsson, 1999**). Il y'a plus d'une quarantaine d'années, la corrélation entre la PBIE et la baisse de la fertilité a été remarquée (**Hughes & Loy, 1969**).

La prise en charge des juments susceptibles d'être atteintes de la PBIE est une tâche ardue. L'embryon équin migre de la trompe utérine vers la lumière utérine entre 144 et 168 heures après l'ovulation. (**Freeman et al., 1991**). Cela se produit en même temps que l'augmentation de la production de progestérone et du tonus du col de l'utérus, ce qui ne laisse que peu de temps pour résoudre l'inflammation. Une neutrophilie persistante, une accumulation de liquide intraluminal et la production prolongée de cytokines pro-inflammatoires sont toutes embryotoxiques, et entraînent une diminution du potentiel de fertilité de ces juments, que ce soit dans le cadre de la monte naturelle ou de l'insémination artificielle (**Robertson et al., 2018**). L'inflammation persistante de l'endomètre crée un environnement utérin hostile pour l'embryon qui entre dans l'utérus, ce qui compromet la récupération de l'embryon et les taux de gestation (**Canisso et al., 2020**), représentant la raison majeure d'échec de conception d'après **Gutjahr et al., (2000)**, ce qui a été en concordance avec les résultats de notre recherche ou seulement 11.11% des juments atteintes de PBIE ont pu concevoir.

Selon les résultats obtenus par **Hanlon et al., (2012)**. Le taux de gestation du premier cycle chez les pur-sang varie de 53, à 68% selon **Nath et al., (2010)**, ce qui ne correspond pas au résultat que nous avons obtenu ou le taux de gestation au premier cycle a été de 37,5%.

Le taux d'infertilité dans notre étude a été de 55.6%, ce qui nous amène à revoir et à contrôler les autres causes d'infertilité, ou la susceptibilité à la PBIE dans notre étude reste inconnue car les juments sujettes à la PBIE ici ne sont pas âgées, il y a même une jument maiden, toutes avec un bon score corporel, aucun facteur anatomique prédisposant, mais la stérilité et la non-conception dans les saisons précédentes, ce qui est en contradiction avec les recherches antérieures de **Ricketts and & Alonso, (1991)** et **Carnevale & Ginther, (1992)**,

montrant que la susceptibilité à la PBIE est l'âge et la parité. Mais par contre nos résultats sont identiques à ceux de **J., Imboden et al., (2021)**. Qui n'ont pas trouvé de défauts anatomiques chez les juments susceptibles à la PBIE.

Selon **Zent et al., (1998)**, Il a été démontré que la PBIE se produit chez 15 % des juments pur-sang normales, ces résultats ne sont pas identiques à ceux de notre étude, ou seulement 5.55% des juments pur-sang ont été atteintes de PBIE, alors que 22.22% des juments de race arabe-barbe ont été PBIE positives.

II. Les moyens de diagnostic de la PBIE :

Plusieurs méthodes existent pour la mise en évidence des endométrites chez la jument, tels que la palpation transrectale, l'examen vaginal, la culture utérine, la cytologie, l'échographie, et la biopsie endométriale (**Rahawy et al., 2022**). Ou nous nous sommes basés sur ces outils pour le diagnostic pour nos juments en plus des examens de sang comme indiqué par **Christoffersen, (2011)**.

A. L'échographie :

Parmi les facteurs qui prédisposent la jument à l'endométrite, nous trouvons les défauts de l'appareil reproducteur, un antécédent de dystocie, une rétention placentaire, une mauvaise évacuation utérine après le dépôt de sperme après la saillie ou l'IA (**Abd-El-Razek et al., 2019**). Une corrélation négative avec la fertilité lorsque les liquides au niveau utérin s'accumulent plus de 24 heures (**Katila, 2012**).

La mesure de l'accumulation des liquides intra-utérins évaluée par échographie représente une méthode courante pour mettre en évidence l'inflammation de l'endomètre de la jument (**Lüttgenau et al., 2021**). Ainsi Le degré d'œdème utérin a été noté de 0 à 3, 0 indiquant l'absence d'œdème et de 1 à 3 indiquant un œdème de degré faible, modéré et sévère selon **Lüttgenau et al., (2021)**.

Sur le plan clinique, les juments sont classées comme sensibles ou résistantes à l'endométrite persistante induite par la saillie en fonction de leur capacité à éliminer cette inflammation/infection 48 heures après la mise à la reproduction comme indiqué par **Canisso et al, (2020)**. La présence d'IUF pendant l'œstrus peut suggérer une susceptibilité des juments à la PBIE, lorsqu'elle dépasse une profondeur de 2 cm (**Wojtysiak et al., 2020**). Ce qui est en

accord avec notre approche de diagnostic et justifie l'heure choisie pour faire le prélèvement 3 (48h après la saillie), et confirme la susceptibilité de nos 5 juments à la PBIE, ou nous avons trouvé qu'à 48h après la saillie, 4 juments avaient une IUF supérieure à 2cm.

Selon **Reilas et al., (1997)**, les résultats que nous avons obtenus, ne sont pas similaires, ou le liquide accumulé n'est pas forcément dans le corps de l'utérus, mais se trouve aussi dans les cornes utérines, et le liquide peut contenir des débris avec une apparition trouble.

B. La cytologie endométriale :

Les moyens les plus utilisés pour diagnostiquer le dysfonctionnement de l'endomètre sont l'écouvillonnage, la cytobrosse, ou le lavage utérin à faible volume (**Długolecka et al., 2019**). L'efficacité des différentes techniques a été largement étudiée et rapportée (**Digby, 1978 ; Aguilar et al., 2006 ; Kozdrowski et al., 2015**). Il a été suggéré que la cytobrosse soit utilisée comme méthode de routine permettant d'améliorer les diagnostics, car la cytobrosse était meilleure que l'écouvillon (**Cocchia et al., 2012**). Cependant, l'interprétation standardisée des résultats cytologiques chez la jument n'est pas encore disponible et doit encore être revue (**Cocchia et al., 2012 ; Walter et al., 2012**).

L'utérus d'une jument saine et non malade est censé être exempt de cellules inflammatoires (**Bohn et al., 2014**).

Pour détecter les endométrites, différents critères sont utilisés pour la quantification cytologique des neutrophiles. Certains auteurs utilisent le pourcentage de 0.5 à 2.5 % de neutrophiles par rapport aux cellules épithéliales de l'endomètre comme marqueur de l'inflammation (**Ball et al., 1988 ; Nielsen, 2005 ; Overbeck et al., 2011 ; Walter et al., 2012 ; Cocchia et al., 2012 ; McKinnon et al., 2011**). D'autres font le comptage des neutrophiles dans plusieurs champs 1000×, et diagnostiquent une endométrite, s'il y'a en moyenne plus d'une cellule inflammatoire par champ (**LeBlanc et al., 2007 ; Riddle et al., 2007 ; Cocchia et al., 2012**). Et, selon **Lüttgenau et al., (2021)**, Un nombre de PMN, a été compté dans 10 champs choisis au hasard en utilisant la microscopie optique à un grossissement de 400. Un total de >5 PMN a été considéré comme une endométrite aiguë. Dans notre cas, nous avons opté pour la méthode de (**Lüttgenau et al., 2021**), vu la simplicité et la rapidité de la technique.

Malgré, le rôle important et crucial que jouent les PMN dans l'élimination de l'inflammation utérine, et la stimulation de la synthèse et la libération de $\text{PGF2}\alpha$ par l'endomètre, permettant l'activation de la contraction utérine (**Troedsson et al., 1995**), tout en exerçant une activité phagocytaire et bactéricide (**Lüttgenau et al., 2021**), L'augmentation des PMN dans l'endomètre chez les juments sensibles peut refléter une persistance plus longue de l'accumulation de PMN plutôt que des différences dans les réponses cellulaires, et peut être un résultat plutôt que la cause d'une inflammation prolongée (**Woodward et al., 2013**).

Chez les juments en bonne santé, les premières cellules PMN sont présentes dans l'utérus une demi heure après l'insémination artificielle (IA), atteignent leur maximum à 8 heures, restent élevées jusqu'à 24 heures, puis disparaissent pratiquement 48 heures plus tard (**Wojtysiak et al., 2020**). Par conséquent, les 6 heures suivant la reproduction ont été considérées comme une période critique pour le développement de la PBIE et les juments sensibles ont été considérées comme présentant un défaut dans le mécanisme de modulation de l'inflammation (**Woodward & Troedsson, 2013**). Cette opinion a été confirmée dans notre recherche, Les PMN étaient très présents 6 heures après la saillie ou l'IA, puis disparaissaient 48 heures plus tard, mais nous avons constaté que chez les juments où le nombre de PMN dépassait 5 par champ après 6 heures de la monte ou d'IA, la disparition de l'inflammation ne se produisait pas après 48 heures et le nombre de PMN ne diminuait pas non plus ; la persistance des fluides demeurait, les juments développaient une PBIE dans ces cas. Ce qui rend exacte notre choix de prélèvement à 6h et 48 h post-saillie.

Sachant que, L'examen cytologique ne permet pas de confirmer la présence d'une endométrite (**Reilas et al., 1997 ; de Borba et al., 2012**). Mais la combinaison de la cytologie et de l'examen échographique est un excellent prédicteur de la PBIE, comme nous l'avons observé dans notre recherche. Cette combinaison peut confirmer la présence d'une endométrite sans confirmer son origine.

En outre, les cellules PMN ont été plus souvent détectées en cytologie que les agents pathogènes en microbiologie (**Buczowska et al., 2016**), Ce qui a été justifié dans notre étude. La raison est que certaines inflammations ne sont pas d'origine infectieuse (**Kenney, 1978**).

C. La microbiologie :

L'inflammation après la saillie est un phénomène normal qui peut être causé par des agents infectieux (c'est-à-dire des bactéries et des champignons) ou par des agents non infectieux tels que le sperme. **(Troedsson et al., 1998)**. En raison d'une activation déficiente de la réponse immunitaire innée, les microbes introduits dans l'utérus au moment de la saillie ne sont pas éliminés efficacement, ce qui entraîne un risque d'infection **(Canisso et al., 2020)**.

L'endométrite peut être divisée en causes infectieuses et non infectieuses. Elles sont souvent associées l'une à l'autre. Les signes cliniques de ces deux types d'endométrite peuvent être impossibles à distinguer, sauf que le premier type implique un ou des micro-organisme(s) **(Troedsson et al., 1995 ; Kotilainen et al., 1994)**.

Selon plusieurs études, le lavage à faible volume est le diagnostic le plus précis pour identifier l'endométrite bactérienne **(Morris et al., 2020)**. Ceci a été une raison pour laquelle, nous avons choisi de faire l'examen microbiologique avec le lavage utérin à faible volume dans notre recherche pour plus de certitude.

Alors que d'autres juments avaient une cytologie positive, leurs cultures microbiennes étaient négatives, l'endométrite non infectieuse provoquée par une inflammation non traitée serait l'explication la plus logique de cette observation **(Díaz-Bertrana et al., 2021)**.

Une endométrite bactérienne a été signalée chez 25 à 60 % des juments sans poulain (Barren) **(Díaz-Bertrana et al., 2021)**. Dans la présente étude 70 % des juments barren avaient une culture bactérienne positive, ceci est peut-être dû au choix de la technique de prélèvement dans notre étude (lavage utérin à faible volume), alors que les auteurs de cette recherche ont travaillé avec l'écouvillon. D'autre part, la variabilité des milieux de culture utilisés dans l'étude pourrait également jouer un rôle.

Lors d'étude menée par **Díaz-Bertrana et al., (2021)**. Les milieux utilisés sont les géloses Columbia, McConkey, Glucose-Sabouraud et Baird-Parker. La gélose Columbia facilite la croissance des espèces de streptocoques. La gélose McConkey permet la sélection et la récupération des bacilles Gram- et inhibe la croissance des micro-organismes Gram+. Quant à la gélose glucose-Sabouraud, elle fournit la croissance des organismes fongiques et des levures. Enfin, la gélose Baird Parker facilite la croissance des espèces de staphylocoques. Ce qui est le cas dans notre étude pour le milieu de McConkey, mais nous avons utilisé la

gélose au sang de mouton 5% + la gélose BEA pour faciliter la croissance des streptocoques, le milieu Chapman pour les staphylocoques, le King A pour les Pseudomonas, et finalement le Sabouraud pour la culture des levures et champignons.

Selon les études, les espèces bactériennes impliquées dans l'endométrite infectieuse équine sont généralement des résidents du microbiote normal de la jument. *Streptococcus equi* sous-espèce *zooepidemicus* étant la bactérie la plus commune induisant l'endométrite chez la jument. (Benko et al., 2015 ; Koskinen 1987 ; Purswell et al., 1989 ; Waelchli et al., 1993 ; Langoni et al., 1997). Cependant, d'autres études décrivent d'autres micro-organismes comme des bactéries communes dans l'endométrite équine comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, sous-espèces *Pseudomonas* et *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp*, *Bacillus spp*, *Actinomyces* et *Lactobacillus spp*. (LeBlanc & Causey, 2009 ; Riddle et al., 2007 ; Frontoso et al., 2008 ; Davis et al., 2013).

Dans l'étude faite par Díaz-Bertrana et al., (2021), Le micro-organisme le plus isolé était *Staphylococcus spp*, suivi par *E. coli*, tandis que *Streptococcus equi* sous-espèce *zooepidemicus* n'a été isolé que chez deux juments. Les résultats de cette étude sont presque identiques à ceux de notre travail où nous avons remarqué que la bactérie la plus isolée a été *Escherichia coli* 32 %, suivi par *Enterococcus faecium* 24%, et *Staphylococcus spp* 12%. D'autres espèces ont été présentes dans nos isolats identiques à ceux de l'étude de Díaz-Bertrana et al., (2021), Comme *Serratia odorifera* et *Aerococcus viridans*. Mais nous n'avons trouvé dans aucun de nos isolats les *Streptococcus equi* sous-espèce *zooepidemicus*.

Ces différences dans les micro-organismes isolés ont été précédemment suggérées comme étant dues aux différentes situations géographiques des juments incluses dans les études, aux différentes populations de juments échantillonnées et à l'exposition à différents médicaments antimicrobiens. (Davis et al., 2013), cette opinion justifie parfaitement les résultats que nous avons trouvés dans la présente étude où nous avons pu isoler des microorganismes tels que : *Photobacterium damsella*, *Pasteurella spp*, *Serratia mercenscens*, *Pasteurella trehalosi*, mais avec une prévalence moins importante que les autres microorganismes 4%.

Certains juments ont présenté une cytologie positive mais une culture microbienne négative. L'explication la plus plausible de cette observation serait une endométrite non infectieuse induite par une inflammation non résolue. D'autres raisons pourraient être les

limites de la technique d'échantillonnage et la présence de biofilms produits par certains microorganismes. En ce qui concerne la technique d'échantillonnage, la sensibilité des différentes méthodes (à savoir l'écouvillon à double gaine, la cytobrosse utérine et la biopsie utérine) a été évaluée (**Rodier et al., 2012**). Ce qui justifie les prélèvements de microbiologie négative avec une cytologie positive dans notre étude.

Selon **Díaz-Bertrana et al., (2021)**, un autre facteur à prendre en considération est l'existence de différences entre les protocoles des laboratoires de microbiologie. De nombreux facteurs peuvent affecter le résultat final d'une culture bactérienne tels que la méthode d'échantillonnage, les conditions de transport vers le laboratoire, la conservation de l'échantillon jusqu'à l'inoculation dans les boîtes de Petri, les milieux de culture utilisés et le temps et les conditions d'incubation. Par conséquent, la comparaison entre les études peut parfois s'avérer hasardeuse. Dans ce sens, il convient de mentionner que le laboratoire ne peut pas toujours être en mesure d'atteindre la catégorie d'espèce pour chaque bactérie isolée, ce qui aurait pu être partiellement le cas pour les autres bactéries ce qui modifierait peut-être partiellement le pourcentage de prévalence principalement dans les genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*, ce qui est en accord avec la méthodologie de notre travail, les milieux utilisés au laboratoire de microbiologie, et les conditions de travail.

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus* et les streptocoques hémolytiques, qui sont des constituants normaux du microbiote du tractus génital de la jument, résidant principalement dans le vestibule vaginal et la fosse clitoridienne, sont considérés comme des micro-organismes opportunistes. (**Hinrichs et al., 1988 ; Shin et al., 1979**).

La présence de ces micro-organismes pourrait également être considérée comme une contamination de l'échantillon. Cependant, étant donné que toutes les juments incluses dans l'étude de **Díaz-Bertrana et al., (2021)**, présentaient une cytologie endométriale positive ou des pertes vaginales anormales, la supposition que la croissance positive était représentative de l'infection utérine, ainsi que les résultats de l'étude confirment que les micro-organismes impliqués dans l'endométrite équine varient fortement selon les circonstances, ce qui souligne l'importance d'effectuer une culture bactériologique appropriée avant de prendre toute décision thérapeutique dans l'endométrite équine. Cette hypothèse est totalement justifiée par nos résultats, ou la décision du traitement dépendait de la cytologie endométriale, ainsi que l'échographie, et les symptômes présents.

Sur le terrain, l'antibiothérapie de l'endométrite est souvent choisie de manière empirique, selon l'expérience personnelle du vétérinaire ou sur la base d'études antérieures, plutôt qu'après avoir effectué un test de sensibilité (Pyörälä et al., 2014).

Cependant, ce n'est pas l'approche la plus appropriée pour le traitement de l'endométrite, même dans des conditions de terrain. D'après les tests de sensibilité, l'antibiotique le plus efficace était l'amikacine, suivi de la gentamicine, selon Albinh et al., (2003) et Díaz-Bertrana et al., (2021). Nos résultats ont montré une sensibilité à la gentamicine et l'amikacine que lors de test de sensibilité effectué pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus spp* ce qui en accord avec les résultats d'Albinh et al., (2003), et Díaz-Bertrana et al., (2021), vu que dans les résultats de (Díaz-Bertrana et al.,2021), les espèces les plus isolées sont *Escherichia coli* et *Staphylococcus spp*. Mais dans notre cas la *Pasteurella spp* était résistante aux deux antibiotiques précités.

Cependant, des rapports plus récents des États-Unis ont observé des efficacités généralement plus élevées pour le triméthoprime-sulfonamide (>90%), suivi par l'amikacine (>80%) (Mitchell et al., 2018).

En fonction des résultats trouvés par Pisello et al., (2019), et confirmés par Díaz-Bertrana et al., (2021), la réponse à l'antibiothérapie varie en quand différents micro-organismes sont pris en considération. La comparaison des résultats de sensibilité entre les études est un exercice difficile car les résultats sont influencés par la situation géographique ou même le traitement antibiotique. Ainsi, les micro-organismes Gram+ ont montré la plus grande sensibilité à l'amikacine suivie de la gentamicine. Tandis que les micro-organismes Gram- ont montré la plus grande sensibilité à l'amikacine, suivie de la céfoxitine et de la gentamicine. En allant plus loin, des variations espèces ont été observées, alors que l'amikacine s'est révélée être un antibiotique efficace pour les bactéries isolées le plus souvent, la gentamicine s'avère efficace pour *E. coli*, *Streptococcus spp*. et *Pseudomonas aeruginosa*, mais pas dans les infections induites par *Staphylococcus spp*. En ce qui concerne les infections à *P. aeruginosa*, ce micro-organisme s'est avéré très sensibles à des antibiotiques tels que le triméthoprime-sulfonamide et la céfoxitine, qui n'ont pas n'ont pas montré une grande efficacité en général.

Ces résultats sont en accord avec ceux de notre étude, ou la gentamicine a été efficace pour *E. coli*, et résistante pour *Staphylococcus spp*. Concernant l'amikacine qui a montré une

sensibilité pour *Staphylococcus spp*, qui est parmi les espèces les plus couramment isolés, ce qui est en accord avec les résultats des deux précédentes études. La céfoxitine a montré une résistance pour E.coli qui est une bactérie Gram-, ce qui contredit les résultats des deux études qui ont indiqué que la céfoxitine est sensible pour les bactéries Gram-.

Dans notre étude les antibiotiques qui ont été sensibles pour E.coli sont : céfotaxime, Ceftazidine, gentamicine, chloramphénicol, et la pénicilline. Selon **Dascanio, (2011)**. Les antimicrobiens les plus couramment utilisés pour traiter l'endométrite sont les β -lactamines (par exemple, le ceftiofur, l'ampicilline, la pénicilline) et les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine et l'amikacine), En outre, les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine et l'amikacine) doivent être tamponnés avec du bicarbonate de sodium pour contrebalancer leur pH acide de 4 (**Canisso et al., 2016 ; LeBlanc, 2009**). Ce qui a justifié notre choix de pénicilline, qui est un antibiotique efficace et disponible sur le terrain, et n'a pas besoin d'être tamponné. Ce qui nous a mené à traiter la jument atteinte de *staphylococcus spp* au miel qui a montré une résistance à la pénicilline, et la jument atteinte de *Pasteurella spp* qui a montré une antibiorésistance à tous les antibiotiques.

D. Le dosage sanguin :

1. Dosage hormonal de la progestérone :

Les hormones stéroïdiennes sont des régulateurs importants de la physiologie de la reproduction chez la jument. L'œstradiol et la progestérone sont à l'origine de changements spectaculaires dans les tissus reproducteurs pendant le cycle œstral et au début de la gestation (**Hartt et al., 2005**).

Dans le passé, les modifications du corps jaune au cours des cycles œstraux chez les juments ne pouvaient être surveillées qu'à l'aide d'une échographie (**Bollwein et al., 2002**). En déterminant le taux de progestérone plasmatique (**Evans & Irvine, 1975 ; Meinecke et al., 1987; Townson et al., 1989**).

Pendant le cycle œstral, une angiogenèse importante a lieu dans le CL (**Hansel & Blair, 1996**). Cette néovascularisation est essentielle pour le substrat nécessaire à la biosynthèse de la progestérone et à la sécrétion d'autres hormones stéroïdes par les cellules lutéales (**Carr et al., 1982**).

Il est de plus en plus évident que l'inflammation de l'utérus altère la fonction des ovaires. Par exemple, la concentration de progestérone (P4) dans le sang, qui reflète la fonction du CL était réduite chez les juments souffrant d'inflammation utérine (**Ginther et al., 1985 ; Adams et al., 1987**). Ces résultats ne sont pas compatibles avec les notre ou la concentration plasmatique de P4 était inférieure à 1 ng/mL dans les 3 échantillons en moyenne, et le niveau de progestérone augmente au cours des différentes phases de prélèvement. Ce qui confirme le résultat de Terblanche et Maree (**Terblanche and Maree, 1981**), ou la valeur de progestérone pendant l'œstrus ne dépasse pas 1ng/ml.

2. Hématologie et la biochimie sanguine :

L'hématologie :

La numération sanguine complète (NSC) fournit des informations au-delà de la concentration des cellules sanguines. Il est possible d'avoir un aperçu des processus pathologiques, leur gravité et même les diagnostics peuvent être de l'hémogramme, en particulier lorsqu'il est associé à une en conjonction avec un film de sang périphérique. Une seule NFS n'est qu'instantanée dans le temps. Plusieurs sont bénéfiques pour mieux comprendre un processus ou l'amélioration d'un processus pathologique (**Walton et al., 2021**).

Les altérations hématologiques reflètent souvent l'état de l'individu ou une réponse globale à une situation pathologique. Les résultats doivent être interprétés en tenant compte différentes données relatives au patient, telles que l'âge, la race, le sexe, la méthode de ponction veineuse, la saison, le statut de la reproduction, l'entraînement, l'exercice physique, l'administration de sédatifs et de tranquillisants, les rythmes biologiques circadiens, l'altitude, et les informations fournies par l'examen clinique (**Messer, 1995 ; Muñoz et al., 2010 ; Trigo et al., 2010 ; Satué et al., 2009 ; Satué et al., 2010 ; Satué et al., 2011 ; Satué et al., 2012**).

Les leucocytes :

Le leucogramme comprend les données numériques et morphologiques des globules blancs. Le leucogramme, comme les indices érythrocytaires, peut fournir des informations sur la présence d'un processus pathologique ou physiopathologique, mais conduit rarement à un diagnostic spécifique (**Walton et al., 2021**). Les modifications du leucogramme équin constituent rarement un diagnostic primaire, mais peuvent fournir des indices sur les processus sous-jacents (**Brooks et al., 2022**).

Pendant la lecture du bilan leucocytaire, nous n'avons pas trouvé de changements significatifs, par contre nous avons trouvé quelques valeurs au-dessous ou au-dessus du seuil, chez quelques juments dans un seul prélèvement, mais chez une jument âgée de 20 ans, une diminution des GB dans les 3 prélèvements. Ce qui est justifié selon **Pusterla & Higgins, (2017)**. Ou la leucopénie peut concerner l'une ou l'ensemble des lignées cellulaires. De légères diminutions en dessous de l'intervalle de référence chez des chevaux par ailleurs en bonne santé sont dues à l'âge ou à d'autres facteurs de répartition et n'ont que peu ou pas de signification clinique.

Les neutrophiles :

Lorsque l'inflammation est établie, un orchestre de médiateurs chimiques module de nombreux événements. La vasodilatation et les substances chimiotactiques agissent pour augmenter la sortie des neutrophiles du bassin local marginalisé vers la lésion inflammatoire (**Thrall et al., 2012**). Les neutrophiles participent aux réponses inflammatoires par la chimio-attraction dans les sites d'inflammation des tissus et la phagocytose d'organismes et d'autres matériaux étrangers. Après la phagocytose, les granules lysosomales fusionnent avec les phagosomes pour détruire les organismes et dégrader le matériel par digestion enzymatique (**Thrall et al., 2012**).

La neutropénie n'apparaît qu'en cas de pathologie. Elle résulte d'une diminution du nombre de neutrophiles entrant dans le sang périphérique que de ceux qui quittent le sang périphérique, ou de la séquestration ou de la destruction -des neutrophiles dans la microcirculation (**Tyler et al., 1987**). Dans notre recherche 3 juments avaient une neutropénie dans les 3 prélèvements, mais sans influence sur l'état général des juments.

Les éosinophiles et basophiles :

L'éosinophilie et/ou la basophilie sont également des anomalies rares du leucogramme qui doivent inclure une maladie endoparasitaire ou ectoparasitaire, hypersensibilité, conditions dermatologiques, réaction à un corps étranger ou à une stimulation antigénique, maladie fongique, irritation des tissus riches en mastocytes (tels que la peau, les poumons, le tractus gastro-intestinal ou le tractus génital féminin), mastocytose/néoplasie des mastocytes, maladie myéloproliférative ou myéloproliférative ou la leucémie de ces lignées cellulaires (**Barrelet & Ricketts, 2002 ; Pusterla, & Higgins 2017**). Nos résultats ne sont pas en accord avec, vu l'absence d'éosinophilie chez toutes les juments, et la présence de basophilie d'une façon pas régulière dans les différents prélèvements.

Les monocytes :

Nous avons trouvé la présence d'une monocytose chez une seule jument durant les 3 prélèvements, ce qui pourrait être justifié par la présence d'une nécrose ou d'inflammation chronique selon **Pusterla & Higgins, (2017)**, et qui a indiqué que c'est une anomalie peu fréquente du leucogramme, ce qui est approuvé par notre étude aussi, vu la présence d'une monocytose d'une façon anarchique chez le reste des juments.

Les lymphocytes :

La lymphopénie peut être causée par les glucocorticoïdes, la perte de lymphocytes du canal thoracique (chylothorax) ou de l'intestin (lymphangectasie), les médicaments immunosuppresseurs et les déficits héréditaires en lymphocytes T (**Tyler et al., 1987**). Nos résultats ne sont pas en accord avec ces derniers vu que la lymphopénie, n'était pas présente d'une façon hiérarchique dans les différentes prises de sang analysées.

Les hématies :

Le cheval est unique par rapport à la plupart des autres espèces de mammifères, car la rate est un organe très volumineux., qui stocke jusqu'à un tiers des globules rouges, et cette réserve peut être mobilisée par l'exercice, le stress ou l'excitation (**Meliani et al., 2014**).

Des concentrations faibles de réticulocytes ont été détectées chez des chevaux anémiques (**Weiss & Wardrop, 2011**). C'est ce que nous avons trouvé chez 3 juments durant les 3 prélèvements. Ou nous pensons que cette anémie n'est pas grave vu l'état général des juments, ceci est justifié par **Balan et al., (2019)**, qui selon lui le sang équin contient peu de réticulocytes circulants par rapport à d'autres espèces, même en cas d'anémie légère à modérée. Cela est probablement dû à la grande capacité de stockage et de tamponnage des GR de la rate équine.

L'érythrogramme comprend généralement les éléments suivants : numération des GR ($\times 10^6/\mu\text{L}$), hématocrite ou volume de cellules concentrées (%), concentration d'hémoglobine (Hb) (pg/dL), volume globulaire moyen (VGM) (fL), concentration d'Hb (TCMH) (pg) ; concentration d'Hb cellulaire moyenne (CCMH) (g/dL) (**Walton et al., 2021**).

L'hémoglobine et l'hématocrite :

L'anémie est définie comme une diminution absolue ou relative de l'hématocrite, de l'hémoglobine et des globules rouges circulants (**Satué et al., 2014**). Ceci est en accord avec nos résultats, ou nous avons trouvé que les juments qui avaient une diminution dans le taux des GR, avaient aussi une diminution dans le taux de l'Ht, et Hb.

Les chevaux atteints d'une anémie légère à modérée ne peuvent avoir aucun signe clinique évident ou seulement une léthargie et des muqueuses légèrement pâles (**Satué et al., 2014**). Pour l'interprétation des données hématologiques chez les chevaux, il faut tenir compte du fait que l'Ht est instable. L'Ht chez les chevaux est très variable, en raison de l'innervation importante de la rate et de son rôle de réservoir de sang, qui peut stocker plus d'un tiers du volume sanguin (**Satué et al., 2014**). Ces résultats ne correspondent pas aux notre. L'Ht a diminué exactement comme l'Hb et le taux des GR justifiant la présence d'une légère anémie.

VGM, TCMH, CCMH :

Les indices érythrocytaires, VGM, TCMH et CCMH, sont particulièrement utiles pour évaluer et catégoriser les processus anémiques. En clinique, les indices les plus utilisés sont le VGM et CCMH, qui indiquent respectivement la taille moyenne des globules rouges et la quantité de HB qu'ils contiennent (**Messer, 1995 ; Morris, 1998**).

En fonction du VGM, les érythrocytes peuvent être classés comme normaux ou normocytaires (diamètre moyen des GR équins normaux : (5-6 ; 5,7 μm), plus petits que la normale ou microcytaires ou plus grands que la normale ou macrocytaires. Selon la CCMH, les érythrocytes sont classés comme étant normochromes, s'ils ont une quantité normale de HB, ou hypochromes, si la quantité d'hémoglobine est inférieure à la normale (**Lording, 2008**).

Dans notre travail, nous avons trouvé que les taux du VGM, et CCMH sont normaux, ainsi que les valeurs non conformes de la TCMH ne sont pas en relation avec la diminution du taux d'HB et le nombre des GR, ce qui justifie la présence d'une légère anémie, justifiée par la particularité de la rate du cheval, comme indiqué par **Balan et al., (2019)**.

Les plaquettes sanguines :

Les plaquettes jouent un rôle essentiel dans les processus d'hémostase et dans la modulation des réactions inflammatoires et immunologiques (**Satué et al., 2017**).

Les concentrations plaquettaires équine sont parmi les plus faibles rapportées pour les mammifères. (**Boudreau & Ebbe, 1998**).

Dans notre travail, nous avons remarqué que dans certains prélèvements, le taux de plaquettes a diminué, mais pas chez une jument particulière dans toutes les phases de prise de sang, nous avons justifié ce résultat par une mauvaise prise de sang qui peut influencer le taux des plaquettes, comme l'a prouvé (**Weiss & Wardrop, 2011**), qui selon lui, afin d'établir un diagnostic de thrombocytopenie vraie chez le cheval, il est important que les échantillons de sang soient prélevés avec précision afin d'obtenir des concentrations plaquettaires adéquates, Des ponctions veineuses répétées, des changements dans le flux sanguin ou un retard dans la réalisation de l'analyse modifient la numération plaquettaire. L'agglutination plaquettaire est un signe d'activation et d'agrégation plaquettaire pendant le prélèvement sanguin. En conséquence, nous pouvons avoir des concentrations plaquettaires basses par erreur.

La biochimie sanguine :

Le dosage des protéines totales :

Les valeurs moyennes de la concentration de protéines totales 18 juments se situent dans l'intervalle de référence pour l'espèce équine selon **Fontequé et al., (2015)**, sauf pour 3 échantillons, les PT circulantes dans le sang, les valeurs ne sont pas restées dans les normes.

Dans notre étude, l'évaluation des paramètres hémato-biochimiques n'ont pas montré de grandes variations pour la plupart des paramètres, l'objectif de voir si la PBIE avait une relation avec les modifications hématologiques et biochimiques n'avait pas été atteint, mais justifie le travail de (**Katila, 2016**). Indiquant que les tests hématologiques et la biochimie sérique ne sont pas considérés comme des indicateurs utiles de l'endométrite équine en raison de la nature locale de l'endométrite post-saillie chez la jument.

E. La biopsie utérine :

La biopsie de l'endomètre est une procédure standard pour l'évaluation de l'état de santé de l'utérus de la jument depuis de nombreuses années. Il s'agit d'une méthode sûre, pratique et très utile. (**Buczkowska et al., 2016**). La biopsie de l'endomètre est un marqueur reconnu de la santé de l'utérus et de la fertilité prévue (**Schlafer, 2007**), et il a été suggéré que les pathologies endométriales sont en corrélation avec la susceptibilité à l'endométrite induite

par la saillie (**Woodward et al., 2012**). Cette technique est sûre, facile à et peut être utilisée par le vétérinaire praticien avec un minimum d'équipement (**Doig et al., 1981**).

On a émis l'hypothèse que les juments ayant des scores de biopsie de IIB et III (indiquant des changements plus dégénératifs) sont plus susceptibles de développer une inflammation et une infection de l'utérus que les juments ayant les scores I et IIA (**Buczowska et al., 2016**).

Parmi les objectifs de cette étude, était d'étudier les associations entre le score de la biopsie de l'endomètre et la présence de PMN dans l'épithélium et le stratum compactum à l'histopathologie. Dans notre étude le taux de PMN dans la biopsie utérine était réduit, ces résultats confirment les observations de **Buczowska et al., (2016)**, et plusieurs autres auteurs (**Doig et al., 1981 ; Hoffmann et al., 2009 ; Kenney and Doig, 1986**), qui indiquent que dans l'histopathologie, la fréquence la plus élevée de détection de cellules inflammatoires a été observée chez les juments avec un score de biopsie III, et que dans notre étude le score de biopsie attribué était IIA.

III. Le traitement alternatif au miel :

Depuis la découverte les antibiotiques dans les années 1940, ont eu un impact extrêmement positif sur la santé humaine et animale. Cependant, l'augmentation continue de l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques a rendu plus difficile le traitement des infections bactériennes avec ces antibiotiques **Li et al., (2023)**. Des recherches approfondies ont été menées sur diverses solutions de remplacement des antibiotiques par les produits naturels. Le miel Algérien est déjà connu pour son activité antimicrobienne contre les levures, bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Li et al. (2023) ont démontré que le miel pouvait inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* dans les plaies infectées. De même, **Al-Musawi et al., (2020)** ont montré que le miel possède une activité antimicrobienne efficace contre *Pasteurella multocida*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus pyogenes* et *Vibrio vulnificus*. Il est intéressant de noter que, comme l'ont montré des études antérieures, tous les micro-organismes testés *in vitro* restent sensibles au miel et aucun ne présente de résistance au miel, en raison des multiples facteurs qui exercent leurs effets par le biais de différents mécanismes (**Khataybeh et al., 2023**), cette étude est en accord avec nos résultats uniquement contre les pasteurelles.

Les facteurs antimicrobiens du miel sont probablement dus à divers composants : peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), défensine-1 de l'abeille, la forte concentration en sucre du miel crée un stress osmotique élevé, composés phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques) ainsi que son faible pH (4.5). Tous ces facteurs et les propriétés sont présents dans de miel à des degrés divers, en fonction des différentes origines botaniques, géographiques, conditions climatiques et de la durée de stockage. **(Khataybeh et al., 2023)**.

Nous avons constaté que la perfusion de miel s'est accompagnée d'une augmentation du volume des fluides utérins, ce qui explique son effet osmolaire. **(Weston, 2000 ; Bang et al., 2003)** Chez les juments avec une IUF appelant un apport sanguin de la lumière endométriale qui est en stase pendant l'inflammation, ce qui favorise une bonne circulation sanguine. Cela a été démontré par **Allano et al., (2009)**, que le miel devrait également favoriser le drainage des glandes endométriale.

Le rétablissement de l'état de la jument, la disparition des liquides accumulés, ainsi que la microbiologie négative, justifie l'efficacité du miel et son effet antibactérien **(Weston, 2000 ; Bang et al., 2003)**.

***Conclusion
et recommandations***

Les études sur les endométrites post-saillie chez la jument en Algérie et même en Afrique sont à ce jour fragmentées et encore incomplètes, appelant des études aptes de couvrir ce manque de données dans la plupart de ses pays.

Sur la base des résultats présentés dans cette thèse, on peut conclure que :

Les juments résistantes et sensibles à la PBIE ont montré une réponse inflammatoire endométriale et une capacité d'élimination utérine significativement différentes face à cette dernière.

De plus, la prédisposition des juments à ce genre de problème n'est forcément pas en relation avec l'âge, ce qui a été prouvé dans notre étude ou les juments touchées par la PBIE n'ont pas été toutes adultes, et avaient un statut sanitaire adéquat, une bonne conformation vulvaire, une alimentation riche, et un bon climat.

Les endométrites post-saillie chez la jument représente une cause d'infertilité, peu importe l'origine infectieuse ou non de cette dernière, mais ça n'empêche pas de mener des études plus poussées sur la relation de l'infertilité avec les endométrites chez la jument et traiter les autres causes d'infertilité dont le taux était de 55.6%, alors que la non conception qui est probablement causée par la PBIE représente le taux de 16.66% dans notre étude.

Nous avons pu constater à travers les études, et aussi nos résultats que la PBIE peut avoir une relation avec la race ou seulement 5.55% des juments pur-sang ont été atteintes de PBIE, alors que 22.22% des juments de race arabe-barbe ont été PBIE positives.

Parmi les moyens de diagnostic de l'endométrite induite par la saillie nous trouvons l'échographie, qui est indispensable pour mettre en évidence cette dernière et déterminer le score d'accumulation des liquides au niveau utérin, et quelle partie de l'utérus contient le liquide, et aussi nous orienter vers le pronostic. La présence de l'échographe est impérative dans l'élevage et doit faire partie du matériel que doit avoir un vétérinaire clinicien.

La présence des liquides au niveau utérin confirme la susceptibilité des juments à la PBIE.

Sachant que le diagnostic des PBIE par échographie est très important, mais ne peut pas confirmer l'origine de cette inflammation d'où la nécessité d'autres moyens tels que, la cytologie, la microbiologie, et la biopsie utérine.

Ces examens représentent une approche complète pour déterminer la cause et l'origine de l'endométrite, et qui doit être obligatoirement associée à une anamnèse bien détaillée pour recueillir le maximum d'informations sur l'état des juments, et orienter notre diagnostic pour une approche correcte.

La cytologie endométriale est un examen très important, au même temps simple à pratiquer et ne nécessite pas des conditions d'asepsie rigoureuse, il doit être considéré comme un examen de routine dans les élevages équins spécialisés dans la reproduction, et que le vétérinaire doit la pratiquer pour confirmer la présence d'une inflammation. Cette dernière a montré plus d'efficacité lors d'utilisation de la cytobrosse que lors d'utilisation d'un écouvillon ou de faire un lavage utérin.

Cette observation montre la concordance entre le diagnostic par échographie et cytologie qui doivent être toujours effectués au même moment.

Les milieux de culture choisis, et la technique de prélèvement ont une conséquence sur les bactéries identifiées. La méthode la plus précise pour l'identification des bactéries au niveau utérin chez la jument est le lavage utérin à faible volume.

La PBIE peut avoir aussi une origine infectieuse d'où le besoin d'une étude microbiologique, qui par laquelle les microorganismes ont été présents encore plus durant le 2^{ème} prélèvement, ce qui nous laisse suggérer que l'accouplement est un moment propice pour la pénétration des germes.

Le choix de l'antibiotique de traitement de la PBIE dépend des résultats de l'antibiogramme, ainsi que la sensibilité de l'utérus et sa tolérance au traitement, puisque pas tous les antibiotiques qui peuvent être administrés par voie systémiques sont autorisés à être administrés par voie locale.

L'antibiotique administré dans notre étude, et le plus toléré par l'utérus, ainsi disponible sur terrain a été de la famille des β -lactamines (Pénicilline), mais chez certaines juments il n'a pas été d'une efficacité, d'où le recours à un traitement alternatif (le miel) pour ses caractéristiques antibactériennes et antiinflammatoires.

Dans notre résultat obtenu ont mis en évidence le pouvoir antibactérien du miel d'euphorbe. Toutefois, des études supplémentaires sur un grand nombre des bactéries isolées et à de plusieurs concentrations du miel doivent être menées afin de confirmer l'efficacité du miel testé.

Le dosage hormonal de la progestérone n'a montré aucun changement chez toutes les juments qui n'a donné aucun résultat significatif, en plus c'est un moyen cher pour l'éleveur, et ne peut être fait qu'à titre de recherche.

L'hématologie et la biochimie sanguine n'ont montré aucune efficacité pour le diagnostic de la PBIE vu sa nature locale et pas systémique, les changements retrouvés sont en relation avec l'état sanitaire de la jument.

La biopsie utérine est une approche standard pour l'évaluation de l'état de santé de l'utérus de la jument, c'est un moyen très révélateur et précis.

En se basant sur les résultats nous pouvons conclure que les réponses inflammatoires prolongées et une élimination utérine retardée des agents pathogènes et du liquide intra-utérin semblent être des facteurs clés dans la pathogenèse de l'endométrite persistante. L'étiologie de la susceptibilité est cependant multifactorielle et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer le rôle exact des infections persistantes dans la baisse de fertilité observée chez les juments sensibles

Références
bibliographiques

- 1) Abd-El-Razek, E., Genedy, T., & Elbaz, H. (2019). Ultrasonographic monitoring and treatment of endometritis in mare. *Journal of Current Veterinary Research*, 1(1), 139-146.
- 2) Adams, G. P., Kastelic, J. P., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (1987). Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 35, 445-454.
- 3) Aguilar, J., Hanks, M., Shaw, D. J., Else, R., & Watson, E. (2006). Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares. *Theriogenology*, 66(2), 423-430.
- 4) Albihn, A., Båverud, V., & Magnusson, U. (2003). Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44, 1-9.
- 5) Alghamdi, A.S., Foster, D.N., Carlson, C.S. and Troedsson, M.H.T. (2005) Nitric oxide levels and nitric oxide synthase expression in uterine samples from mares susceptible and resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 53, 230-237.
- 6) Allano, M., Dore, M., & Vaillancourt, D. (2009). Dynamic of uterine fluid following an intra-uterine infusion of a 70% honey solution and its innocuousness on the endometrium in mare in dioestrus. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160(11), 520-526.
- 7) Almasaudi, S. B., El-Shitany, N. A., Abbas, A. T., Abdel-Dayem, U. A., Ali, S. S., Al Jaouni, S. K., & Harakeh, S. (2016). Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- 8) Al-Musawi, S., Albukhaty, S., Al-Karagoly, H., Sulaiman, G. M., Alwahibi, M. S., Dewir, Y. H., ... & Rizwana, H. (2020). Antibacterial activity of honey/chitosan nanofibers loaded with capsaicin and gold nanoparticles for wound dressing. *Molecules*, 25(20), 4770.
- 9) Annandale, A., Stroehle, R.M., Schulman, M.L., Sibeko-Matjila, K.P., Fosgate, G.T., Handler, J., Vemming, D.C., Clift, S.J., 2018. Influence of cycle stage, age and endometrial biopsy score on oxytocin receptor distribution and gene expression in the cervix and uterus of non-pregnant mares. *Theriogenology* 120, 1–9.

- 10) Asbury, A. C., & Hansen, P. J. (1987). Effects of susceptibility to endometritis and stage of cycle on phagocytic activity of uterine derived neutrophils. *Journal of Reproduction and Fertility*, 35(suppl), 311–316.
- 11) Asbury, A. C., Gorman, N. T., & Foster, G. W. (1984). Uterine defense mechanisms in the mare: Serum opsonins affecting phagocytosis of *Streptococcus zooepidemicus* by equine neutrophils. *Theriogenology*, 21(2), 375–385.
- 12) Asbury, A. C., Halliwell, R. E., Foster, G. W., & Longino, S. J. (1980). Immunoglobulins in uterine secretions of mares with differing resistance to endometritis. *Theriogenology*, 14(4), 299–308.
- 13) Bae, S.E., Watson, E.D., 2003. A light microscopic and ultrastructural study on the presence and location of oxytocin in the equine endometrium. *Theriogenology* 60, 909–921.
- 14) Balan, M., McCullough, M., & O'Brien, P. J. (2019). Equine blood reticulocytes: reference intervals, physiological and pathological changes. *Comparative Clinical Pathology*, 28, 53-62.
- 15) Ball, B. A., Shin, S. J., Patten, V. H., Lein, D. H., & Woods, G. L. (1988). Use of a low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. *Theriogenology*, 29(6), 1269-1283.
- 16) Bang, L. M., Bunting, C., & Molan, P. (2003). The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(2), 267-273.
- 17) Bang, L. M., Bunting, C., & Molan, P. (2003). The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(2), 267-273.
- 18) Bang, L. M., Bunting, C., & Molan, P. (2003). The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(2), 267-273.
- 19) Barbacini S, Necchi D, Zavaglia G, Squires EL. Retrospective study on the incidence of postinsemination uterine fluid in mares inseminated with frozen/ thawed semen. *J Equine Vet Sci* 2003;23(11):493-6.

- 20) Barrelet, A., & Ricketts, S. (2002). Haematology and blood biochemistry in the horse: a guide to interpretation. *In Practice*, 24(6), 318-327.
- 21) Beltaire, K. A., Cheong, S. H., & Coutinho da Silva, M. A. (2012). Retrospective study on equine uterine fungal isolates and antifungal susceptibility patterns (1999–2011). *Equine Veterinary Journal*, 44, 84-87.
- 22) Benko, T., Boldizar, M., Novotny, F., Hura, V., Valocky, I., Dudrikova, K., ... & Petrovic, V. (2015). Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. *Veterinární medicína*, 60(11).
- 23) Bohn, A. A., Ferris, R. A., & McCue, P. M. (2014). Comparison of equine endometrial cytology samples collected with uterine swab, uterine brush, and low- volume lavage from healthy mares. *Veterinary clinical pathology*, 43(4), 594-600.
- 24) Bollwein, H., Mayer, R., Weber, F., & Stolla, R. (2002). Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, 57(8), 2043-2051.
- 25) Boudreaux, M. K., & Ebbe, S. (1998). Comparison of platelet number, mean platelet volume and platelet mass in five mammalian species. *Comparative Haematology International*, 8, 16-20.
- 26) Brendemuehl, J. P., & Diplomate, A. C. T. (2001). Effect of oxytocin and PGF2a on luteal formation, function, and pregnancy rates in mares. In *AAEP Proceedings* (Vol. 47, p. 239).
- 27) Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Varner, D. D., & Blanchard, T. L. (2003, November). A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. In *AAEP Proc* (Vol. 49, pp. 363-365).
- 28) Brinsko, S. P., Varner, D. D., & Blanchard, T. L. (1991). The effect of uterine lavage performed four hours post insemination on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, 35(6), 1111-1119.
- 29) Brinsko, S. P., Varner, D. D., Blanchard, T. L., & Meyers, S. A. (1990). The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, 33(2), 465-475.

- 30) Brinsko, S.P., Blanchard, T.L., Varner, D.D., Schumacher, J., Love, C.C., Hinrichs, K., and Hartman, D.L. (2011). Reproductive Anatomy of the Mare. In: Manual of equine reproduction. London : Elsevier, 1-9.
- 31) Brinsko, S.P., Rigby, S.L., Varner, D.D. and Blanchard, T.L. (2003) A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. In: The Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. 49, 363-365.
- 32) Brinsko, S.P.; Rigby, S.L.; Varner, D.D.; Blanchard, T.L. A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. AAEP Proc. 2003, 49, 363–365
- 33) Brooks, M. B., Harr, K. E., Seelig, D. M., Wardrop, K. J., & Weiss, D. J. (Eds.). (2022). Schalm's Veterinary Hematology.
- 34) Bucca, S.; Carli, A.; Buckley, T.; Dolci, G.; Fogarty, U. The use of dexamethasone administered to mares AT breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. Theriogenology 2008, 70, 1093–1100. [CrossRef] [PubMed]
- 35) Buczkowska, J., Kozdrowski, R., Nowak, M., & Sikora, M. (2016). Relationship between uterine biopsy score, endometrial infection and inflammation in the mare. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere*, 44(03), 158-163.
- 36) Cadario, M. E., Thatcher, W. W., Klapstein, E., Merrit, A. M., Archbald, L. F., Thatcher, M. J., & LeBlanc, M. M. (1999). Dynamics of prostaglandin secretion, intrauterine fluid and uterine clearance in reproductively normal mares and mares with delayed uterine clearance. *Theriogenology*, 52(7), 1181-1192.
- 37) Campbell, M.L.H.; England, G.C.W. A comparison of the ecbolic efficacy of intravenous and intrauterine oxytocin treatments. *Theriogenology* 2002, 58, 473–477.
- 38) Canisso, I. F., Segabinazzi, L. G., & Fedorka, C. E. (2020). Persistent breeding-induced endometritis in mares—A multifaceted challenge: From clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1432.
- 39) Canisso, I. F., Stewart, J., & da Silva, M. A. C. (2016). Endometritis: Managing persistent post-breeding endometritis. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 32(3), 465-480.

- 40) Card, C. (2005). Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*, 64(3), 580-588.
- 41) Carnevale, E. M., & Ginther, O. J. (1992). Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, 37(5), 1101-1115.
- 42) Carr, B. R., MacDonald, P. C., & Simpson, E. R. (1982). The role of lipoproteins in the regulation of progesterone secretion by the human corpus luteum. *Fertility and sterility*, 38(3), 303-311.
- 43) Cheung, A. T., Liu, I. K., Walsh, E. M., & Miller, M. E. (1985). Phagocytic and killing capacities of uterine- derived polymorphonuclear leukocytes from mares resistant and susceptible to chronic endometritis. *American Journal of Veterinary Research*, 46(9), 1938–1940.
- 44) Choi, M. J., Lee, E. J., Park, J. S., Kim, S. N., Park, E. M., & Kim, H. S. (2017). Anti-inflammatory mechanism of galangin in lipopolysaccharide-stimulated microglia: Critical role of PPAR- γ signaling pathway. *Biochemical pharmacology*, 144, 120-131.
- 45) Christo_ersen, M.; Soderling, M.; Rudefalk, S.R.; Pedersen, H.G.; Allen, J.; Krekeler, N. Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by *Streptococcus zooepidemicus*. *Theriogenology* 2015, 84, 1283–1290.[CrossRef]
- 46) Christoffersen, M. (2011). *Inflammatory response to induced infectious endometritis in the mare* (Doctoral dissertation, University of Copenhagen, Faculty of Life Sciences, Department of Large Animal Sciences, Section for Veterinary Reproduction and Obstetrics .
- 47) Christoffersen, M., & Troedsson, M. H. T. (2017). Inflammation and fertility in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 14-20.
- 48) Christoffersen, M., Woodward, E., Bojesen, A. M., Jacobsen, S., Petersen, M. R., Troedsson, M. H. T., & Lehn-Jensen, H. (2012). Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis. *BMC Veterinary Research*, 8(1), 41.
- 49) Cocchia, N., Paciello, O., Auletta, L., Uccello, V., Silvestro, L., Mallardo, K., ... & Pasolini, M. P. (2012). Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, 77(1), 89-98.

- 50) Cocchia, N., Paciello, O., Auletta, L., Uccello, V., Silvestro, L., Mallardo, K., ... & Pasolini, M. P. (2012). Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, 77(1), 89-98.
- 51) Cowell, R. L., & Tyler, R. D. (2001). *Diagnostic cytology and hematology of the horse*. Elsevier Health Sciences.
- 52) Cronin, J. G., Turner, M. L., Goetze, L., Bryant, C. E., & Sheldon, I. M. (2012). Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. *Biology of Reproduction*, 86(2), 51.
- 53) Dascanio, J. J. (2011). How and when to treat endometritis with systemic or local antibiotics. In *Proceedings of the 57th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Antonio, Texas, USA, 18-22 November 2011* (pp. 24-31). American Association of Equine Practitioners (AAEP).
- 54) Dascanio, J. J., Schweizer, C., & Ley, W. B. (2001). Equine fungal endometritis. *Equine Veterinary Education*, 13(6), 324-329.
- 55) Dascanio, J., Ley, W. B., & Bowen, J. M. (1997). How to perform and interpret uterine cytology. In *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* (Vol. 43, pp. 182-186).
- 56) Davies, D., Meade, K. G., Herath, S., Eckersall, P. D., Gonzalez, D., White, J. O., ... Sheldon, I. M. (2008). Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6, 53.
- 57) Davis, H. A., Stanton, M. B., Thungrat, K., & Boothe, D. M. (2013). Uterine bacterial isolates from mares and their resistance to antimicrobials: 8,296 cases (2003–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(7), 977-983.
- 58) Davolli, G. M., Beavers, K. N., Medina, V., Sones, J. L., Pinto, C. R., Paccamonti, D. L., & Causey, R. C. (2018). Concentrations of sulfadiazine and trimethoprim in blood and endometrium of mares after administration of an oral suspension. *Journal of Equine Veterinary Science*, 67, 27-30.

- 59) de Agustín, P., López- Ríos, F., Alberti, N., & Pérez- Barrios, A. (1999). Fine- needle aspiration biopsy of the adrenal glands: a ten- year experience. *Diagnostic cytopathology*, 21(2), 92-97.
- 60) de Borba, E. V. C., Camozzato, G. C., Malschitzky, E., Bustamante-Filho, I. C., Martins, A. A., Mattos, R. C., & Neves, A. P. (2012). Is the presence of uterine fluid a reliable indicator of endometrial inflammation. *Pferdeheilkunde*, 28(1), 27-29.
- 61) Díaz-Bertrana, M. L., Deleuze, S., Pitti Rios, L., Yeste, M., Morales Fariña, I., & Rivera del Alamo, M. M. (2021). Microbial prevalence and antimicrobial sensitivity in equine endometritis in field conditions. *Animals*, 11(5), 1476.
- 62) Digby, N. W. (1978). The technique and clinical application of endometrial cytology in mares. *Equine Veterinary Journal*, 10(3), 167-170.
- 63) Długolecka, E., Tobolski, D., & Janowski, T. (2019). Endometrial histopathology, bacteriology and cytology outcomes in mares with early embryonic death (EED): a field study. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 377-384.
- 64) Doig, P. A., McKnight, J. D., & Miller, R. B. (1981). The use of endometrial biopsy in the infertile mare. *The Canadian Veterinary Journal*, 22(3), 72.
- 65) Doty, A., Buhi, W. C., Benson, S., Scoggin, K. E., Pozor, M., Macpherson, M., ... Troedsson, M. H. (2011). Equine CRISP3 modulates interaction between spermatozoa and polymorphonuclear neutrophils. *Biology of Reproduction*, 85(1), 157–164.
- 66) Eckersall, P. D. (2008). Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6, 117-155.
- 67) Esteller-Vico, A., Liu, I. K. M., Vaughan, B., Steffey, E. P., & Brosnan, R. J. (2015). Effects of vascular elastosis on uterine blood flow and perfusion in anesthetized mares. *Theriogenology*, 83(6), 988-994.
- 68) Esteller-Vico, A., Liu, I. K., & Couto, S. (2012). Uterine vascular degeneration is present throughout the uterine wall of multiparous mares. Colinearity between elastosis, endometrial grade, age and parity. *Theriogenology*, 78(5), 1078-1084.

- 69) Eurell, J. A., & Frappier, B. L. (Eds.). (2013). *Dellmann's textbook of veterinary histology*. John Wiley & Sons.
- 70) Evans, M. J., & Irvine, C. H. (1975). Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, (23), 193-200.
- 71) Fedorka, C. E., Scoggin, K. E., Woodward, E. M., Squires, E. L., Ball, B. A., & Troedsson, M. H. T. (2017). The effect of select seminal plasma proteins on endometrial mRNA cytokine expression in mares susceptible to persistent mating- induced endometritis. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(1), 89–96.
- 72) Fedorka, C. E., Woodward, E. M., Scoggin, K. E., Esteller-Vico, A., Squires, E. L., Ball, B. A., & Troedsson, M. H. T. (2016). The Effect of Cysteine- Rich Secretory Protein- 3 and Lactoferrin on Endometrial Cytokine mRNA Expression After Breeding in the Horse. *Journal of Equine Veterinary Science*, 48, 136–142.
- 73) Ferris, R. A., Bohn, A., & McCue, P. M. (2015). Equine endometrial cytology: collection techniques and interpretation. *Equine Veterinary Education*, 27(6), 316-322.
- 74) Ferris, R.A. (2016). Endometritis: diagnostic tools for infectious endometritis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 32: 481–498.
- 75) Fiala, S. M., Pimentel, C. A., Mattos, A. L. G., Gregory, R. M., & Mattos, R. C. (2007). Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare. *Theriogenology*, 67(3), 556-562.
- 76) Fischer, A. (2014). Fundamentals of cytological diagnosis and its biological basis.
- 77) fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares: a field study. In *Proc Am Assoc Equine Pract* (Vol. 44, pp. 64-65).
- 78) Fonteque, J. H., Ceccatto, M. L., Bagio, R. M., Schade, J., Saito, M. E., Martins, V. V., ... & Costa, D. (2015). Hematological profile, total plasma protein and fibrinogen concentrations of clinically healthy adult Campeiro horses. *Ciência Rural*, 46, 144-149.
- 79) Freeman, D. A., Weber, J. A., Geary, R. T., & Woods, G. L. (1991). Time of embryo transport through the mare oviduct. *Theriogenology*, 36(5), 823-830.

- 80) Frontoso, R., De Carlo, E., Pasolini, M. P., van der Meulen, K., Pagnini, U., Iovane, G., & De Martino, L. (2008). Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. *Research in veterinary science*, 84(1), 1-6.
- 81) Fumuso, E., Giguère, S., Wade, J., Rogan, D., Videla-Dorna, I., & Bowden, R. A. (2003). Endometrial IL-1 β , IL-6 and TNF- α , mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis: Effects of oestrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(1), 31-41.
- 82) Gannabathula, S., Krissansen, G. W., Skinner, M., Steinhorn, G., & Schlothauer, R. (2015). Honeybee apisimin and plant arabinogalactans in honey costimulate monocytes. *Food chemistry*, 168, 34-40.
- 83) Gannabathula, S., Skinner, M. A., Rosendale, D., Greenwood, J. M., Mutukumira, A. N., Steinhorn, G., ... & Schlothauer, R. C. (2012). Arabinogalactan proteins contribute to the immunostimulatory properties of New Zealand honeys. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 34(4), 598-607.
- 84) Ginther, O. J., Garcia, M. C., Bergfelt, D. R., Leith, G. S., & Scraba, S. T. (1985). Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, 24(4), 409-417.
- 85) Groppetti, D., Pecile, A., Arrighi, S. et al. (2010). Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: a useful tool for reproductive diagnosis in the bitch. *Theriogenology* 73: 927-941
- 86) Gutjahr, S., Paccamonti, D. L., Pycocock, J. F., Taverne, M. A. M., Dieleman, S. J., & Van der Weijden, G. C. (2000). Effect of dose and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares. *Theriogenology*, 54(3), 447-456.
- 87) Hanlon, D. W., Stevenson, M., Evans, M. J., & Firth, E. C. (2012). Reproductive performance of Thoroughbred mares in the Waikato region of New Zealand: 2. Multivariable analyses and sources of variation at the mare, stallion and stud farm level. *New Zealand Veterinary Journal*, 60(6), 335-343.

- 88) Hansel, W., & Blair, R. M. (1996). Bovine corpus luteum: a historic overview and implications for future research. *Theriogenology*, 45(7), 1267-1294.
- 89) Hartt, L. S., Carling, S. J., Joyce, M. M., Johnson, G. A., Vanderwall, D. K., & Ott, T. L. (2005). Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. *Reproduction*, 130(2), 241-250.
- 90) Herath, S., Fischer, D. P., Werling, D., Williams, E. J., Lilly, S. T., Dobson, H., ... Sheldon, I. M. (2006). Expression and function of toll-like Receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. *Endocrinology*, 147(1), 562–570
- 91) Hinrichs, K., Cummings, M. R., Sertich, P. L., & Kenney, R. M. (1988). Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares. *Journal of the American veterinary medical association*, 193(1), 72-75.
- 92) Hoffmann, C., Ellenberger, C., Mattos, R. C., Aupperle, H., Dhein, S., Stief, B., & Schoon, H. A. (2009). The equine endometrosis: new insights into the pathogenesis. *Animal reproduction science*, 111(2-4), 261-278.
- 93) Hughes, J. P., & Loy, R. G. (1969, December). Investigations on the effect of intrauterine inoculations of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. In *Proc Am Assoc Equine Pract* (Vol. 15, pp. 289-292.
- 94) Hussein, S. Z., Mohd Yusoff, K., Makpol, S., & Mohd Yusof, Y. A. (2012). Gelam Honey Inhibits the Production of Proinflammatory Mediators NO, P G E 2, TNF- α , and IL-6 in Carrageenan-Induced Acute Paw Edema in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- 95) Irvine, C. H. G., McKEOUGH, V. L., Turner, J. E., Alexander, S. L., & Taylor, T. B. (2002). Effectiveness of a two- dose regimen of prostaglandin administration in inducing luteolysis without adverse side effects in mares. *Equine veterinary journal*, 34(2), 191-194.
- 96) J., Imboden, I., Wellnitz, O., Romer, R., Scaravaggi, I., Neves, A. P., ... & Bollwein, H. (2021). Intrauterine infusion of killed semen adversely affects uterine blood flow and endometrial gene expression of inflammatory cytokines in mares susceptible to persistent breeding-induced endometritis. *Theriogenology*, 163, 18-30.

- 97) Jain, N. C. (1986). The horse. Normal haematologic with comments on response to disease. *Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, PA*, 140-177.
- 98) Kainer, R.A. 1993. Reproductive organs of the mare. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. Equine Reproduction. Philadelphia: Lea & Febiger, pp. 3-19.
- 99) Katila, T. (1995). Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biology of Reproduction Monograph, 1*, 515–517.
- 100) Katila, T. (2012). Post- mating inflammatory responses of the uterus. *Reproduction in domestic animals, 47*, 31-41.
- 101) Katila, T. (2016). Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reproductive biology, 16*(3), 189-196.
- 102) Katila, T. Post-mating inflammatory responses of the uterus. *Reprod. Dom. Anim.* 2012, 47, 31–41. [CrossRef] [PubMed].
- 103) Katila, T. Post-mating inflammatory responses of the uterus. *Reprod. Dom. Anim.* 2012, 47, 31–41. [CrossRef] [PubMed].
- 104) Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nature Immunology, 11*(5), 373–384.
- 105) Kenney RM, Doig PA. Equine endometrial biopsy. In: Current Therapy in Theriogenology. Marrow D, ed. Philadelphia: Saunders 1986; 723–729.
- 106) Kenney, R. M. (1975). Prognostic value of endometrial biopsy of the mare. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement, (23)*, 347-348.
- 107) Kenney, R. M. (1978). Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *Journal of the American Veterinary Medical Association, 172*(3), 241-262.
- 108) Kenney, R. M., & Doig, P. A. (1986). Equine endometrial biopsy. Current Therapy in Theriogenology 2: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Reproductive Diseases in Small and Large Animals, ; David, AM, Ed.

- 109) Khan, F. R., Abadin, U. I., & Rauf, N. (2007). Honey; Nutritional and medical Value. *Medscape Today*.
- 110) Khataybeh, B., Jaradat, Z., & Ababneh, Q. (2023). Anti-bacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities of honey: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 116830.
- 111) Knutti, B., Pycock, J. F., Van Der Weijden, G. C., & Küpfer, U. (2000). The influence of early postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine fluid accumulations after breeding. *Equine veterinary education*, 12(5), 267-270.
- 112) Koochak, H., Seyyednejad, S. M., & Motamedi, H. (2010). Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(3), 180-184.
- 113) Koskinen, E. (1987). Uterine involution, ovarian activity and fertility in the post-partum mare. *J. reprod. Fert.*, 35, 733-734.
- 114) Kotilainen, T., Huhtinen, M., & Katila, T. (1994). Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, 41(3), 629-636.
- 115) Kozai, K., Tokuyama, S., Szóstek, A.Z., Toishi, Y., Tsunoda, N., Taya, K., Sakatani, M., Takahashi, M., Nambo, Y., Skarzynski, D., Yamamoto, Y., 2016. Evidence for a PGF2 α Auto-Amplification System in the Endometrium in the Mare. *Reproduction* REP-15.
- 116) Kozdrowski, R., Sikora, M., Buczkowska, J., Nowak, M., Raś, A., & Dziecioł, M. (2015). Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Animal reproduction science*, 154, 56-62.
- 117) Langoni, H., Alvarenga, M. A., Papa, F. O., Sakamoto, C., Baldini, S., & Listoni, F. J. P. (1997). Aerobic, microaerobic and anaerobic bacteria in equine endometritis. *Pferdeheilkunde*, 13, 548-548.
- 118) Lassen, E. D., & Swardson, C. J. (1995). Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 11(3), 351-389.

- 119) LeBlanc MM, Neuwirth L, Asbury AC, Tran T, Mauragis D, Klapstein E. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Vet J* 1994;26(2):109-13.
- 120) Leblanc, M. M. (2003). Persistent mating-induced endometritis. In *Current therapy in equine medicine* (pp. 234-237). WB Saunders.
- 121) LeBlanc, M. M. (2009). The current status of antibiotic use in equine reproduction. *Equine Veterinary Education*, 21(3), 156-167.
- 122) LeBlanc, M. M. (2009). The current status of antibiotic use in equine reproduction. *Equine Veterinary Education*, 21(3), 156-167.
- 123) LeBlanc, M. M., & Causey, R. C. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 10-22.
- 124) LeBlanc, M. M., Magsig, J., & Stromberg, A. J. (2007). Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, 68(3), 403-412.
- 125) LeBlanc, M.M ;Neuwirth, L.; Asbury, A.C.; Tran, T.; Mauragis, D.; Klapstein, E. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Vet. J.* 1994, 26, 109–113 [CrossRef]
- 126) LeBlanc, M.M., Neuwirth, L., Asbury, A.C., Tran, T., Mauragis, D. and Klapstein, E. (1994) Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Vet. J.* 26, 109-113.
- 127) Li, D., Liu, Y., Li, Y., Lv, Y., Pei, X. and Guo, D. (2010) Significance of nitric oxide concentration in plasma and uterine secretes with puerperal endometritis in dairy cows. *Vet. Res. Communications* 34, 315-321.
- 128) Li, J., & Monje-Galvan, V. (2023). In Vitro and In Silico Studies of Antimicrobial Saponins: A Review. *Processes*, 11(10), 2856.
- 129) Li, M., Xiao, H., Su, Y., Cheng, D., Jia, Y., Li, Y., ... & Bai, Q. (2023). Synergistic inhibitory effect of honey and *Lactobacillus plantarum* on pathogenic bacteria and their promotion of healing in infected wounds. *Pathogens*, 12(3), 501.

- 130)** Lieberman, J. The ABCs of granule mediated cytotoxicity: New weapons in the arsenal. *Nat. Rev. Immunol.* 2003, 3, 361–370.
- 131)** Liu, I. K., Cheung, A. T., Walsh, E. M., & Ayin, S. (1986). The functional competence of uterine- derived polymorphonuclear neutrophils (PMN) from mares resistant and susceptible to chronic uterine infection: A sequential migration analysis. *Biology of Reproduction*, 35(5), 1168–1174.
- 132)** Liu, I., Rakestraw, P.A., Coit, C., Harmon, F. and Snyder, J. (1997) An in vitro investigation of the mechanism of neuromuscular regulation in myometrial contractility. *Pferdeheilkunde* 13, 557.
- 133)** Lording, P. M. (2008). Erythrocytes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(2), 225-237.
- 134)** Lüttgenau, J., Imboden, I., Wellnitz, O., Romer, R., Scaravaggi, I., Neves, A. P., ... & Bollwein, H. (2021). Intrauterine infusion of killed semen adversely affects uterine blood flow and endometrial gene expression of inflammatory cytokines in mares susceptible to persistent breeding-induced endometritis. *Theriogenology*, 163, 18-30.
- 135)** Madill, S., Troedsson, M. H. T., Santschi, E. M., & Malone, E. D. (2002). Dose-response effect of intramuscular oxytocin treatment on myometrial contraction of reproductively normal mares during estrus. *Theriogenology*, 58(2-4), 479-481.
- 136)** Marth, C. D., Young, N. D., Glenton, L. Y., Noden, D. M., Browning, G. F., & Krekeler, N. (2015). Deep sequencing of the uterine immune response to bacteria during the equine oestrous cycle. *BMC Genomics*, 16, 934.
- 137)** Marth, C.D.; Firestone, S.M.; Hanlon, D.; Glenton, L.Y.; Browning, G.F.; Young, N.D; Krekeler, N. Innate immune genes in persistent mating induced endometritis in horses. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018, 30, 533–545.
- 138)** Masmiquel, L., Hernandez- Pascual, C., Simo, R., and Mesa, J. (1993). Adrenal abscess as a complication of adrenal fine- needle biopsy. *Am J Med* 95: 244–245.
- 139)** McKinnon, A. O., Squires, E. L., Harrison, L. A., Blach, E. L., & Shideler, R. K. (1988). Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition : Effect of involution

and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(3), 350-353.

140)McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). (2011). *Equine reproduction*. John Wiley & Sons.

141)Meinecke, B., Gips, H., & Meinecke-Tillmann, S. (1987). Progestagen, androgen and oestrogen levels in plasma and ovarian follicular fluid during the oestrous cycle of the mare. *Animal Reproduction Science*, 12(4), 255-265.

142) Melcher, Y., Prunner, I., and Drillich, M. (2014). Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology* 82: 57–6.

143)Meliani, S., Benallou, B., Hamdi, A., & Bouabdelli, S. (2014). Influence of age on haematological parameters in post-partum pure Bred Arabian Mares Raised in Tiaret Algeria. *J. Microb. Biochem. Technol*, 7, 8-10.

144)Messer, N. T. (1995). The use of laboratory tests in equine practice. *Veterinary clinics of North America: equine practice*, 11(3), 345-350.

145)Mitchell, A. R., de Amorim, M. D., Thachil, A. J., Altier, C., & Cheong, S. H. (2018). Uterine bacterial isolates from mares and their resistance to antimicrobials. *Journal of Equine Veterinary Science*, 66, 114.

146) Mitchell, G., Liu, I. K. M., & Perryman, L. E. (1982). Preferential production and secretion of immunoglobulins by the equine endometrium - a mucosal immune system. *Journal of Reproduction and Fertility*, suppl 32, 161-168.

147)Mohd Sairazi, N. S., Sirajudeen, K. N., Muzaimi, M., Mummedy, S., Asari, M. A., & Sulaiman, S. A. (2018). Tualang honey reduced neuroinflammation and caspase-3 activity in rat brain after kainic acid-induced status epilepticus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

148)Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(1), 5-28.

- 149)** Morrell, J. M., & Rocha, A. (2022). A novel approach to minimising acute equine endometritis that may help to prevent the development of the chronic state. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 799619.
- 150)** Morris, D. D. (1998). Diseases of the hemolymphatic system. *Equine Internal Medicine. Philadelphia: Saunders*, 564-566.
- 151)** Morris, L. H., McCue, P. M., & Aurich, C. (2020). Equine endometritis: A review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 160(5), R95-R110.
- 152)** Muñoz, A., Riber, C., Trigo, P., & Castejón, F. (2010). Hematology and clinical pathology data in chronically starved horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30(10), 581-589.
- 153)** Muraille, E.; Goriely, S. The nonspecific face of adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol* . 2017, 48, 38–43.
- 154)** Nash, D.M.; Sheldon, I.M.; Herath, S.; Lane, E.A. Markers of the uterine innate immune response of the mare. *Anim. Reprod. Sci.* 2010, 119, 31–39.
- 155)** Nath, L. C., Anderson, G. A., & McKinnon, A. O. (2010). Reproductive efficiency of Thoroughbred and Standardbred horses in north-east Victoria. *Australian Veterinary Journal*, 88(5), 169-175.
- 156)** Navaei- Alipour, N., Mastali, M., Ferns, G. A., Saberi- Karimian, M., & Ghayour- Mobarhan, M. (2021). The effects of honey on pro- and anti- inflammatory cytokines: A narrative review. *Phytotherapy Research*, 35(7), 3690-3701.
- 157)** Nie, G. J., Johnson, K. E., Wenzel, J. G. W., & Braden, T. D. (2002). Effect of periovulatory ebolics on luteal function and fertility. *Theriogenology*, 58(2-4), 461-463).
- 158)** Nielsen, J. M. (2005). Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 64(3), 510-518.
- 159)** O’Grady, F., Lambert, H. P., Finch, R. G., & Greenwood, D. (1997). Antibiotics and Chemotherapy. 7-th ed. *New York*, 363-368.
- 160)** Oguri N, Tsutsumi Y. Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. *J Reprod Fertil* 1972;31:187e95.

- 161)**Overbeck, W., Witte, T. S., & Heuwieser, W. (2011). Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, *75*(7), 1311-1318.
- 162)**Palm, F., Walter, I., Budik, S., Kolodziejek, J., Nowotny, N., & Aurich, C. (2008). Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1[β], IL-6, TNF-[α], and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, *70*(5), 843–851.
- 163)**Pascottini, O. B., Dini, P., Hostens, M., Ducatelle, R., & Opsomer, G. (2015). A novel cytologic sampling technique to diagnose subclinical endometritis and comparison of staining methods for endometrial cytology samples in dairy cows. *Theriogenology*, *84*(8), 1438-1446).
- 164)**Persson, S. G. B. (1967). On blood volume and working capacity in horses. *Acta Vet. Scand.(Suppl.)*, *19*, 1-189.
- 165)**Petersen, M. R., Skive, B., Christoffersen, M., Lu, K., Nielsen, J. M., Troedsson, M. H. T., & Bojesen, A. M. (2015). Activation of persistent *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in mares with subclinical endometritis. *Veterinary microbiology*, *179*(1-2), 119-125.
- 166)**Pickett, B. W., Amann, R. P., McKinnon, A. O., & Voss, J. L. (1993). Equine reproduction. *Lea and Febiger, Philadelphia*, 768-789.
- 167)**Pisello, L., Rampacci, E., Stefanetti, V., Beccati, F., Hyatt, D. R., Coletti, M., & Passamonti, F. (2019). Temporal efficacy of antimicrobials against aerobic bacteria isolated from equine endometritis: an Italian retrospective analysis (2010–2017). *Veterinary Record*, *185*(19), 598-598.
- 168)**Prieto, M., Barrio, M., Quintela, L. A., Perez-Martin, C. C., Becerra, J. J., Vigo, M., ... & Herradon, P. G. (2012). Validation of simple method for the interpretation of uterine cytology in cows. *Veterinární medicína*, *57*(7), 360-363à.
- 169)**Purswell, B. J., Ley, W. B., Sriranganathan, N., & Bowen, J. M. (1989). Aerobic and anaerobic bacterial flora in the postpartum mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, *9*(3), 141-144.
- 170)**Pusterla, N., & Higgins, J. (Eds.). (2017). *Interpretation of equine laboratory diagnostics*. John Wiley & Sons.

- 171) Pycock JF, Newcombe JR. Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. *Vet Rec* 1996;138: 320-3.
- 172) Pycock, J. F., & Allen, W. E. (1988). Pre-chemotactic and chemotactic properties of uterine fluid from mares with experimentally induced endometritis. *Veterinary Record*, 123, 193–195.
- 173) Pycock, J. F., & Newcombe, J. R. (1996). Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. *Veterinary Record*, 138(14), 320-323.
- 174) Pyörälä, S., Taponen, J., & Katila, T. (2014). Use of antimicrobials in the treatment of reproductive diseases in cattle and horses. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 16-26.
- 175) Rahawy, M. A., Al-Haak, A. G., & Hayawy, E. H. (2022). Detection of endometritis using uterine cytobrush and ultrasonography in mares. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(1), 39-44.
- 176) Rasch, K., Schoon, H. A., Sieme, H., & Klug, E. (1996). Histomorphological endometrial status and influence of oxytocin on the uterine drainage and pregnancy rate in mares. *Equine veterinary journal*, 28(6), 455-460.
- 177) Raynaud, A., Ghezali, L., Gloaguen, V., Liagre, B., Quero, F., & Petit, J. M. (2013). Honey-induced macrophage stimulation: AP-1 and NF- κ B activation and cytokine production are unrelated to LPS content of honey. *International immunopharmacology*, 17(3), 874-879.
- 178) Reilas, T., & Katila, T. (2002). Proteins and enzymes in uterine lavage fluid of postpartum and nonparturient mares. *Reproduction in Domestic Animals*, 37(5), 261-268.
- 179) Reilas, T., Katila, T., Mäkelä, O., Huhtinen, M., & Koskinen, E. (1997). Intrauterine fluid accumulation in oestrous mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 38, 69-78.
- 180) Ricketts, S. W. (1987). The laboratory as an aid to clinical diagnosis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 3(3), 445-460.
- 181) Ricketts, S. W., & Alonso, S. (1991). Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. *Equine Veterinary Journal*, 23(3), 185-188.

- 182)** Riddle, W. T., LeBlanc, M. M., & Stromberg, A. J. (2007). Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, 68(3), 395-402.
- 183)** Rigby S, Love C, Carpenter K, Varner D & Blanchard T 1998 Use of prostaglandin E2 to ripen the cervix of the mare prior to induction of parturition. *Theriogenology* 50 897-904.
- 184)** Robertson, S. A. (2007). Seminal fluid signaling in the female reproductive tract: Lessons from rodents and pigs. *Journal of Animal Science*, 85(13 Suppl), E36–E44.
- 185)** Robertson, S. A., Chin, P. Y., Femia, J. G., & Brown, H. M. (2018). Embryotoxic cytokines—Potential roles in embryo loss and fetal programming. *Journal of reproductive immunology*, 125, 80-88.
- 186)** Rodier, C., Ponthier, J., Parrilla Hernandez, S., & Deleuze, S. (2012). Effect of artificial insemination site on post-mating endometritis in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(suppl 5).
- 187)** Rodriguez, J. S., Han, S., Nielsen, S., Pearson, L. K., Gay, J. M., & Tibary, A. (2012). Consequences of intrauterine enrofloxacin infusion on mare endometrium. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(2), 106-111.
- 188)** Rosselli, M., Keller, P.J. and Dubey, R.K. (1998) Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human Reproduction Update* 4, 3-24.
- 189)** Roszel, J. F., & Freeman, K. P. (1988). Equine endometrial cytology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 4(2), 247-262.
- 190)** Samper, J. C. (2009). Uterine edema in the mare. *Equine breeding management and artificial insemination*, 2, 133-138
- 191)** Santos, V.G., Castro, T., Bettencourt, E.M., Ginther, O.J., 2015. Oxytocin induction of pulses of a prostaglandin metabolite and luteolysis in mares. *Theriogenology* 83, 730–738.
- 192)** Satue, K., Blanco, O., & Munoz, A. (2009). Age-related differences in the hematological profile of Andalusian broodmares of Carthusian strain. *Veterinárni medicína*, 54(4), 175-182.

- 193)** Satué, K., Gardón, J. C., & Muñoz, A. (2017). Interpretation of platelets in the horse. *J Hematol Res*, *4*, 19-25.
- 194)** Satué, K., Hernández, A., & Muñoz, A. (2012). Physiological factors in the interpretation of equine hematological profile. *Hematology—Science and practice*, *24*, 573-596.
- 195)** Satué, K., Hernández, A., Lorente, C., & O'Connor, J. E. (2010). Immunophenotypical characterization in Andalusian horse: variations with age and gender. *Veterinary immunology and immunopathology*, *133*(2-4), 219-227.
- 196)** Satué, K., Muñoz, A., & Gardón, J. C. (2014). Interpretation of alterations in the horse erythrogram. *J Hematol Res*, *1*, 1-10.
- 197)** Satué, K., Muñoz, A., & Montesinos, P. (2011, August). Seasonal variations in the erythrogram in pregnant Carthusian mares. In *Proceedings of 13th Conference of the European Society of Veterinary Clinical Pathology, 9th Conference of Association Des Eleveurs De Chevaux, Des Cavaliers Et Des Propertaires, 12th American College of Clinical Pharmacy and American Society for Veterinary Clinical Pathology* (Vol. 31, pp. 65-73).
- 198)** Saxena, D., Purohit, S.B., Kumer, G.P. and Laloraya, M. (2000) Increased appearance of inducible nitric oxide synthase in the uterus and embryo at implantation. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry/Official Journal of the Nitric Oxide Society* *4*, 384-391.
- 199)** Scarlet, D., Malama, E., Fischer, S., Knutti, B., & Bollwein, H. (2023). Relationship between Clinical Uterine Findings, Therapy, and Fertility in the Mare. *Veterinary Sciences*, *10*(4), 259.
- 200)** Schalm, O. W., Jaim, N. C., & Carroll, E. J. (1975). *Veterinary Haematology*. 3rd (ed.) Lea. And Febiger, Philadelphia, USA.
- 201)** Schlafer, D. H. (2007). Equine endometrial biopsy: enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques?. *Theriogenology*, *68*(3), 413-422.
- 202)** Schnobrich, M. R., Pearson, L. K., Barber, B. K., Bradecamp, E., & Tibary, A. (2015). Effects of intrauterine infusion of a water-based suspension of enrofloxacin on mare endometrium. *Journal of Equine Veterinary Science*, *35*(8), 662-667.

- 203)** Schramme, A. R., Pinto, C. R. F., Davis, J., Whisnant, C. S., & Whitacre, M. D. (2008). Pharmacokinetics of carbetocin, a long-acting oxytocin analogue, following intravenous administration in horses. *Equine veterinary journal*, *40*(7), 658-661.
- 204)** Scofield, D., Black, J., Wittenburg, L., Gustafson, D., Ferris, R., Hatzel, J., ... & McCue, P. (2014). Endometrial tissue and blood plasma concentration of ceftiofur and metabolites following intramuscular administration of ceftiofur crystalline free acid to mares. *Equine veterinary journal*, *46*(5), 606-610.
- 205)** Scoggin, C. F. (2016). Endometritis: nontraditional therapies. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, *32*(3), 499-511.
- 206)** Sharkey, L. C., Radin, M. J., & Seelig, D. M. (Eds.). (2020). *Veterinary Cytology*. John Wiley & Sons.
- 207)** Sharkey, L. C., Radin, M. J., & Seelig, D. M. (Eds.). (2020). *Veterinary Cytology*. John Wiley & Sons.
- 208)** Sharp, D.C., Thatcher, M.J., Salute, M.E., Fuchs, A.R., 1997. Relationship between endometrial oxytocin receptors and oxytocin-induced prostaglandin F_{2α} release during the oestrous cycle and early pregnancy in pony mares. *J. Reprod. Fertil.* *109*, 137–144.
- 209)** Shin, S. J., Lein, D. H., Aronson, A. L., & Nusbaum, S. R. (1979). The bacteriological culture of equine uterine contents, in-vitro sensitivity of organisms isolated and interpretation. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, (27), 307-315.
- 210)** Silva, E., Leitão, S., Henriques, S., Kowalewski, M. P., Hoffmann, B., Ferreira-Dias, G., ... Mateus, L. (2010). Gene transcription of TLR2, TLR4, LPS ligands and prostaglandin synthesis enzymes are up-regulated in canine uteri with cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex. *Journal of Reproductive Immunology*, *84*(1), 66–74).
- 211)** Silva, E.S.M., Scoggin, K.E., Canisso, I.F., Troedsson, M.H., Squires, E.L., Ball, B.A., 2014. Expression of receptors for ovarian steroids and prostaglandin E₂ in the endometrium and myometrium of mares during estrus, diestrus and early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* *151* (3–4), 169–181.

- 212)** Slusher, S. H., Freeman, K. P., & Roszel, J. F. (1984). Eosinophils in equine uterine cytology and histology specimens. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184(6), 665-670.
- 213)** Slusher, S. H., Freeman, K. P., & Roszel, J. F. (1985). Infertility diagnosis in mares using endometrial biopsy, culture and aspirate cytology. In *Proceedings of the... annual convention of the American Association of Equine Practitioners*.
- 214)** Song, J. J., Lim, H. W., Kim, K., Kim, K. M., Cho, S., & Chae, S. W. (2012). Effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on H₂O₂ induced oxidative and inflammatory responses in human middle ear epithelial cells. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 76(5), 675-679.
- 215)** Starbuck, G.R., Stout, T.A.E., Lamming, G.E., Allen, W.R., Flint, A.P.F., 1998. Endometrial oxytocin receptor and uterine prostaglandin secretion in mares during the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 113, 173–179.
- 216)** Steckler, D., Naidoo, V., Gerber, D., & Kähn, W. (2012). Ex vivo influence of carbetocin on equine myometrial muscles and comparison with oxytocin. *Theriogenology*, 78(3), 502-509.
- 217)** Stout, T.A.E., Lamming, G.E., Allen, W.R., 2000. Oxytocin and its endometrial receptor are integral to luteolysis in the cycling mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 56, 281–287.
- 218)** Sz'ostek, A.Z., Siemieniuch, M.J., Galv~ao, A.M., Lukasik, K., Zieba, D., Ferreira-Dias, G.M., Skarzynski, D.J., 2012. Effects of cell storage and passage on basal and oxytocin-regulated prostaglandin secretion by equine endometrial epithelial and stromal cells. *Theriogenology* 77, 1698–1708.
- 219)** Terblanche, HM and Maree, L. (1981). Plasma progesterone levels in the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *Journal of the South African Veterinary Association*, 52(3), 181-185.
- 220)** Thompson, R. E., Premanandan, C., Pukazhenthii, B. S., & Whitlock, B. K. (2020). A review of in vivo and in vitro studies of the mare endometrium. *Animal Reproduction Science*, 222, 106605.

- 221) Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (Eds.). (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. John Wiley & Sons.
- 222) Tibary, A. and Anouassi, A. (2001). Uterine infections in Camelidae. *Vet Sci Tomorrow* 3: 1-12.
- 223) Townson, D. H., Pierson, R. A., & Ginther, O. J. (1989). Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. *Theriogenology*, 32(2), 197-204.
- 224) Traub-Dargatz, J. L., Salman, M. D., & Voss, J. L. (1991). Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(10), 1745-1747.
- 225) Trigo, P., Castejon, F., Riber, C., & Muñoz, A. (2010). Use of biochemical parameters to predict metabolic elimination in endurance rides. *Equine Veterinary Journal*, 42, 142-146.
- 226) Tripathi, P. (2007) Nitric oxide and immune response. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 44, 310-319.
- 227) Troedsson MH, Liu IK. Uterine clearance of non-antigenic markers (51Cr) in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. *J Reprod Fertil Suppl* 1991;44:283-8.
- 228) Troedsson MHT. Breeding-induced endometritis in mares. *Vet Clin N Am Equine Pract* 2006;22:705-12.
- 229) Troedsson MHT. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology* 1999;52:461-71.
- 230) Troedsson, M. H. T. (1997). Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. *Pferdeheilkunde*, 13, 516-520.
- 231) Troedsson, M. H. T., Crabo, B. G., Ibrahim, N., & Scott, M. (1995). Mating-induced endometritis: mechanisms, clinical importance, and consequences. In *Proceedings of the... annual convention*.

- 232)** Troedsson, M. H. T., Desvousges, A., Alghamdi, A. S., Dahms, B., Dow, C. A., Hayna, J., ... Buhi, W. C. (2005). Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Animal Reproduction Science*, 89(1), 171–186.
- 233)** Troedsson, M. H. T., Esteller-Vico, A., Scoggin, K. E., Woodward, E. M., Squires, E. L., Ball, B. A., & Maxwell, H. (2014). Equine seminal plasma derived lactoferrin regulates binding of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) to spermatozoa. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(1), 49.
- 234)** Troedsson, M. H. T., Liu, I. K. M., Ing, M., & Pascoe, J. (1995). Smooth muscle electrical activity in the oviduct and the effect of oxytocin, PGF₂ α and PGE₂ on the myometrium and the oviduct of the cycling mare. *Biology of Reproduction Monograph 1: Equine Reproduction VI*, 439–452.
- 235)** Troedsson, M. H. T., Loset, K., Alghamdi, A. M., Dahms, B., & Crabo, B. G. (2001). Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Animal reproduction science*, 68(3-4), 273-278.
- 236)** Troedsson, M. H., Liu, I. K., & Crabo, B. G. (1998). Sperm transport and survival in the mare: a review. *Theriogenology*, 50(5), 807-818.
- 237)** Troedsson, M. H., Liu, I. K., & Thurmond, M. (1993a). Function of uterine and blood-derived polymorphonuclear neutrophils in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection: Phagocytosis and chemotaxis. *Biology of Reproduction*, 49(3), 507–514.
- 238)** Troedsson, M. H., Liu, I. K., & Thurmond, M. (1993b). Immunoglobulin (IgG and IgA) and complement (C3) concentrations in uterine secretion following an intrauterine challenge of *Streptococcus zooepidemicus* in mares susceptible to versus resistant to chronic uterine infection. *Biology of Reproduction*, 49(3), 502–506.
- 239)** Troedsson, M. H., Liu, I. K., Ing, M., & Pascoe, J. (1995). Smooth muscle electrical activity in the oviduct, and the effect of oxytocin, prostaglandin F₂ α , and prostaglandin E₂ on the myometrium and the oviduct of the cycling mare. *Biology of Reproduction*, 52(monograph_series1), 475-488.
- 240)** Troedsson, M.H.T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology* 1999, 52, 461–471. [CrossRef]

- 241)** Trotter, G. W., & McKinnon, A. O. (1988). Surgery for abnormal vulvar and perineal conformation in the mare. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 4(3), 389-405.
- 242)** Tunón, A. M., Katila, T., Magnusson, U., Nummijärvi, A., & RodriguezMartinez, H. (2000). T- cell distribution in two different segments of the equine endometrium 6 and 48 hours after insemination. *Theriogenology*, 54(6), 835–84.
- 243)** Tyler, R. D., Cowell, R. L., Clinkenbeard, K. D., & MacAllister, C. G. (1987). Hematologic values in horses and interpretation of hematologic data. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 3(3), 461-484.
- 244)** Van Camp, S. D. (1988). Endometrial biopsy of the mare: a review and update. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 4(2), 229-245.
- 245)** Vanderwall, D. K., & Woods, G. L. (2003). Effect on fertility of uterine lavage performed immediately prior to insemination in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(8), 1108-1110.
- 246)** Vanderwall, D.K., Silvia, W.J., Fitzgerald, B.P., 1998. Concentrations of oxytocin in the intercavernous sinus of mares during luteolysis: temporal relationship with concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂α. *J. Reprod. Fertil.* 112, 337–346.
- 247)** Waelchli, R. O., Känzig, M., Gygax, A., Corboz, L., & Rüschi, P. (1993). The relationship between cycle stage and results of uterine culture in the mare. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 40(1- 10), 569-575.
- 248)** Walter, J., Neuberg, K. P., Failing, K., & Wehrend, A. (2012). Cytological diagnosis of endometritis in the mare: investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. *Animal reproduction science*, 132(3-4), 178-186.
- 249)** Walton, R. M., Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2021). *Equine Hematology, Cytology, and Clinical Chemistry*.
- 250)** Watson, E. D., & Dixon, C. E. (1993). An immunohistological study of MHC Class II expression and T lymphocytes in the endometrium of the mare. *Equine Veterinary Journal*, 25(2), 120–124.

- 251)** Watson, E. D., & Thomson, S. R. (1996). Lymphocyte subsets in the endometrium of genitally normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 28(2), 106–110).
- 252)** Watson, E. D., Stokes, C. R., & Bourne, F. J. (1987). Cellular and humoral defence mechanisms in mares susceptible and resistant to persistent endometritis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 16(1-2), 107-121.
- 253)** Watson, E. D., Stokes, C. R., David, J. S., Bourne, F. J., & Ricketts, S. W. (1987). Concentrations of uterine luminal prostaglandins in mares with acute and persistent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 19(1), 31–37.
- 254)** Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (Eds.). (2011). *Schalm's veterinary hematology*. John Wiley & Sons.
- 255)** Weston, R. J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food chemistry*, 71(2), 235-239.
- 256)** Weston, R. J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food chemistry*, 71(2), 235-239.
- 257)** Weston, R. J. (2000). The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food chemistry*, 71(2), 235-239.
- 258)** Widders, P. R., Stokes, C. R., David, J. S. E., & Bourne, F. J. (1984). Quantification of the immunoglobulins in reproductive tract secretion in the mare. *Research in Veterinary Science*, 37, 324–330.
- 259)** Williamson, P., Dunning, A., O'Connor, J., & Penhale, W. J. (1983). Immunoglobulin levels, protein concentrations and alkaline phosphatase activity in uterine flushings from mares with endometritis. *Theriogenology*, 19(3), 441–448.
- 260)** Witte, T. S., Bergwerff, A. A., Scherpenisse, P., Drillich, M., & Heuwieser, W. (2010). Ceftiofur derivatives in serum and endometrial tissue after intramuscular administration in healthy mares. *Theriogenology*, 74(3), 466-472.

- 261)** Wojtysiak, K., Ryszka, W., Stefaniak, T., Król, J., & Kozdrowski, R. (2020). Changes in the secretion of anti-inflammatory cytokines and acute-phase proteins in the uterus after artificial insemination in the mare. *Animals*, *10*(12), 2438.
- 262)** Woodward, E. M., & Troedsson, M. H. (2013). Equine breeding-induced endometritis: A review. *Journal of Equine Veterinary Science*, *33*(9), 673-682.
- 263)** Woodward, E. M., & Troedsson, M. H. T. (2015). Inflammatory mechanisms of endometritis. *Equine veterinary journal*, *47*(4), 384-389.
- 264)** Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Betancourt, A., Horohov, D., Scoggin, K. E., ... Troedsson, M. H. T. (2013b). Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction*, *145*(3), 289–296.
- 265)** Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Squires, E. L., & Troedsson, M. H. T. (2012). Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: Relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. *Theriogenology*, *78*(3), 495-501.
- 266)** Woodward, E., Christoffersen, M., Campos, J., Horohov, D., Scoggin, K., Squires, E. and Troedsson, M.H.T. (2013) An investigation of uterine nitric oxide production in mares susceptible and resistant to persistent breeding-induced endometritis and the effects of immunomodulation. *Reprod. Dom. Animals* *48*, 554-561.
- 267)** Woodward, E.M.; Troedsson, M.H.T. Equine breeding-induced endometritis: A review. *J. Equine Vet. Sci.* 2013, *33*, 673–682. [CrossRef]
- 268)** Zent, W. W., Troedsson, M. H., & Xue, J. L. (1998, December). Postbreeding uterine fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares: a field study. In *Proc Am Assoc Equine Pract* (Vol. 44, pp. 64-65).

DIAGNOSIS OF EQUINE POST-BREEDING ENDOMETRITIS : ULTRASONOGRAPHY, MICROBIOLOGY, CYTOLOGY, AND CORRELATION TO FERTILITY IN TIARET REGION, WESTERN ALGERIA

Sabrina Ait Abdelkader^{1*}, Bouabdellah Benallou¹, Mohamed Amine Ayad²,
Amina Belkhemas¹, Yassine Hadj Boussada², sara Nesrine Benouadah³

^{1*}*Institute of Veterinary Sciences, University of Tiaret (14000), Algeria;*

²*Farm Animal Reproduction Laboratory, Veterinary Institute, University of Tiaret (14000), Algeria;*

*Corresponding Author Sabrina Ait Abdelkader, e-mail : abdelkadersabrina.ait@univ-tiaret.dz;

Received October 2022; Accepted November 2022; Published January 2023;

DOI: <https://doi.org/10.31407/ijeess13.121>

ABSTRACT

Post-breeding endometritis is one of the most frequent problems of infertility in mares, and it can be difficult to treat and result in significant economic loss. The objective of this study was to diagnose post-breeding endometritis (PBIE) in order to avoid chronic endometritis, to identify the risk factors, and examine the relationship between pregnancy results and the presence of inflammation detected by ultrasound, cytology, microbiological culture, and progesterone measurement. The overall of the 15th mares aged between 4 and 20 years old were randomly selected from the 100 mares examined during the 2022 breeding season. Transrectal ultrasonography (B-mode) was used to examine the mares, when a follicular diameter of at least 35 mm was observed, the first sample was taken 24 hours before mating or artificial insemination, the same sample was taken 6 and 48 hours after including low volume uterine lavage for microbiology, blood sample for progesterone measurement and uterine cytology with a cytobrush. Pregnancy rate was 40%, and plasma concentration of progesterone (P4) was increasing during the 3 samples and less than 1 ng/mL. PBIE was detected by ultrasonography, the presence of fluids 48 hours after mating only in 3 mares with a degree ≥ 2 . Cytology was negative before mating in all mares, a polymorphonuclear neutrophil (PMN) peak was encountered at 6h and the PMN number disappeared at 48h except in the mares where uterine fluid was present and PMN number was >5 by field. Finally microbiology showed the presence of many microorganisms in mares with PBIE and even with no PBIE, and antimicrobial susceptibility were evaluated, the mares developed antibiotic resistance and no antibiotics were effective. These observations showed that PBIE is one of the factors causing infertility to which attention should be paid, ultrasound and cytology are good means of diagnosing it, microbiology helps in the treatment.

Key words : post-breeding endometritis, infertility, cytology, microbiology, ultrasonography.

INTRODUCTION

The third most prevalent disease afflicting mares and the main cause of sub fertility is endometritis, which is an infection or inflammation of the endometrium (Traub- Dargatz et al., 1991; Troedsson, 1999).

In the past, endometritis was believed to be caused solely by a bacterial or fungal infection. However, early research discovered a similar neutrophil response whether the mare was exposed to sperm, saline, or bacteria (Canisso et al., 2020).

Despite the existence of infectious and non-infectious endometritis causes in clinical practice, they frequently co-occur. The only difference between these two types of endometritis' clinical signs is that the first type involves microorganisms. Unfortunately, there are currently only a few controlled investigations contrasting infectious vs non-infectious endometritis in mares (Troedsson et al., 1995; Kotilainen et al., 1994).

The mare's endometrium's inflammatory response to breeding is a natural process required to clear the uterus of extra spermatozoa and contaminated microorganisms (Lüttgenau et al., 2021). When semen is deposited into the uterus during mating or artificial insemination, PMN cells are rapidly chemotaxised into the endometrial tissue and uterine lumen (Wojtysiak et al., 2020).

The highest PMN concentration in the uterine lumen is predicted to peak after 4 to 8 hours, (Katila, 1995; Woodward et al., 2013; Zerbe et al., 2003), and PMNs are generally eliminated since the inflammation subsides in 24 to 36 hours (Troedsson, 1999). This allows the uterus of resistant mares to (PBIE) to be cleaned of inflammatory fluid, bacteria, and extra spermatozoa (Katila, 1995; Troedsson, 1999).

Consequently, the 6 hours following breeding were considered as a crucial moment for the genesis of PBIE, and mares who were susceptible were considered to have a weakness in the inflammatory modulating process (Woodward and Troedsson, 2013).

Clinically, mares' ability to recover from this inflammation or infection by 48 hours after breeding determines whether they are susceptible to or resistant to persistent breeding-induced endometritis (PBIE) (Canisso et al., 2020). According to Brinsko et al. (2003), the presence of intra uterine fluid (IUF) retention with a diameter >20 mm for at least 72 h confirmed mares' susceptibility to PBIE. Some intra uterine fluid was seen in resistant mares without fluid retention, but only for the first 12 hours.

The risk factors for IUF accumulation in diestrus include the mare's age, parity, poor perineal conformation, uterine infection, location of the uterus within the abdominal cavity, aberrant cervical function, and excessive fluid retention during estrus, and uterine biopsy scores IIB and III (increasing of fibrotic and inflammatory changes in the endometrium) (Brinsko et al. ; 2003; Bucca et al., 2008; Christoffersen et al., 2015; Katila, 2012; LeBLANC et al., 1994; Troedsson, 1999; Woodward et al., 2012 ; Woodward and Troedsson, 2013).

Based on the literature, uterine inflammation also affects the ovaries function. Indeed, blood progesterone (P4) concentration decreased in mares with uterine inflammation, reflecting lower corpus luteum (CL) function. (Lüttgenau et al., 2021).

Regrettably, there are no endometritis prevalence figures available in Algeria, which equates to an absence of an early diagnosis. As a result, the infertility rate has grown, having a significant economic impact.

In this context, the objective of this study was to diagnose PBIE in order to avoid chronic endometritis, to identify the risk factors, and examine the relationship between pregnancy results and the presence of inflammation detected by ultrasound, cytology, microbiological culture, and progesterone measurement.

MATERIAL AND METHODS

Animals

During the administrative season (February 15th – June 30th) of 2022, 100 mares were examined daily by ultrasound, we randomly selected 15 mares whose races are : 6 (arabian beard), 3 (beard), 6 (thoroughbred).

Aged between 4 and 20 years old, with a body score not less than 2/5, non-pregnant, clinically healthy, normally cycling, fed with barley and wheat straw.

All manipulations were clinically needed, hence the Ethical Committee's approval was not necessary. Owners' written permission to use the data was acquired.

Study area

The study was conducted in the Tiaret region, which covers an area of 20,399 km² and is about 160 km from the Mediterranean coast. The annual temperature ranges from 6 to 25 °C and the annual precipitation totals range from 4 to 69 mm.

Ultrasonography

It was done with an ultrasonic scanner and a linear-probe 5-8 MHz (Sonoscape A6). Every two days starting in early estrus, an ultra sound examination of the reproductive system was done, then another one 6 hours after mating/AI, (and also after 48 hours to determine the ovulation of the mares).The dominant follicle's diameter, endometrial edema, the presence and measurement of IUF were all noted. Additional ultra sound examinations were done 14 and 45 days after ovulation for pregnancy diagnosis.

Experimental design

Transrectal ultrasonography (B-mode) was used to examine the mares every two to three days in order to identify the start of estrus. Once the dominant follicle had a diameter of around 30 mm and there was uterine edema, examinations were done every day.

When a follicular diameter of at least 35 mm was observed, the first sample was taken 24 hours before mating / artificial insemination:

Low volume uterine lavage 60mL (saline / physiological water) for microbiology with an administration of 2mL of oxytocin after each uterine lavage.

Blood sample from the left or right jugular vein for the progesterone measurement in a tube containing heparine as anticoagulant.

Uterine cytology with a cytobrush.

After mating/artificial insemination 2 more identical samples were taken at 6 and 48 hours.

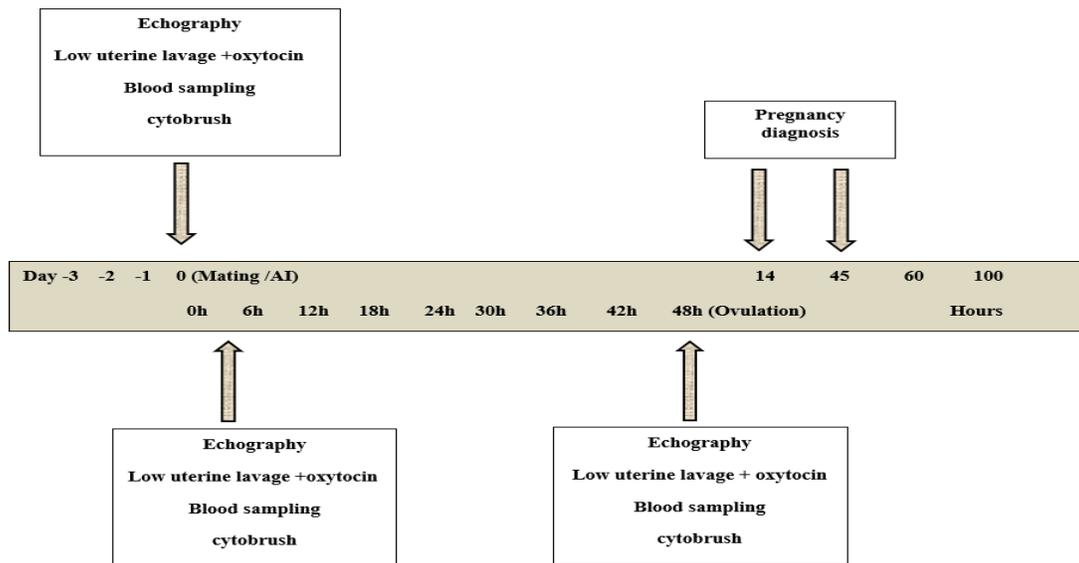


Figure 1. Experimental Design.

Artificial insemination (AI) with fresh semen

Three of the fifteen mares were inseminated with the same fresh semen. The semen was collected using an artificial vagina, and was filtered to separate the gel, then a spermogram was performed to see the sperm concentration/mL (minitube, SDM1, calibrated for equine). Semen is mixed with diluents, gentamicin.

Before AI, the mare's tail was bandaged, and the ano-vulvar region is washed scrubbed with povidone-iodine and dried with a paper towel. An insemination dose (40 mL of semen with total number of sperm above 200×10^6 , with spermatozoa motility above 60%) was deposited into the uterine body using a sterile insemination catheter by a hand covered with a sterile obstetrical sleeve and sterile gel through the vagina and cervix.

Sample collection

Prior to each sample collection, the perineal region of the mare was prepared in the same way as for AI. Then, uterine lavage was done using a sterile catheter placed in a sterile 60mL syringe containing saline warmed to 38°C. Briefly, the sterile catheter was manually guided into the uterus by a hand covered with a sterile obstetrical sleeve and sterile gel.

After that, the fluid was collected, the amount collected ranges from 10 to 55 mL.

Using cytobrush, endometrial cells were obtained. The cytobrush was guided by transvaginal manual assistance through the cervix, and a cell sample was taken from the uterine body.

The cytobrush was immediately spread on an object slide, air-dried, fixed, and stained with Diff-Quick (SHANDON, KWIK-DIFF™, Kit cat No.9990700, 500mL/16oz), and then evaluated by light microscopy. In order to evaluate inflammation under 400x magnification.

Immediately during each sample, a blood sample was collected from the right or left jugular vein into a tube containing Heparine as anticoagulant. Tubes were immediately placed on ice and plasma was separated by centrifugation, and P4 concentrations were measured.

Endometrial bacteriology and cytology

The number of polymorphonuclear neutrophils (PMN) was counted in 10 different, randomly selected fields of view using light microscopy at 400 magnification, in agreement with a modified schedule of Prieto et al. (2012), acute endometritis was defined as having > than 5 PMN over all.

Samples were cultured in MacConkey Agar, Glucose Sabouraud Agar, Chapman Agar, BEA Agar, 5% sheep's Blood Agar, King A Agar to allow as many of the potentially present microorganisms to grow.

If the culture was positive.

Gram staining and biochemical tests, specifically the catalase, coagulase, and oxidase tests, were initially used to identify colonies. Then, API tests were also conducted (BioMérieux).

API tests were included in the present study, the API 20 NE to identify the Gram-negative *Non-enterobacteria*, API 20E was used to identify microorganisms belonging to the genera *Enterobacteriaceae* and other non-fastidious Gram-negative rods, the API 20 Staph to identify *Staphylococcus*, and finally the API 20 Strept for the identification of *Streptococcus* and *Enterococcus*.

Disk diffusion antibiotic sensitivity test was carried out after colonies were isolated and identified, either in Mueller Hinton broth or blood agar in the case of streptococci

Plates were incubated at 37°C for 24 hours after the inoculation of the bacteria.

The results of the evaluation of bacterial growth inhibition were then classified as sensitive, intermediate, or resistant.

Selected antibiotics were depending on the media in which the microbial cultures were grown according to the standardisation of the antibiogram in veterinary medicine in Algeria 2021 : Penicillin G, Oxacillin, Gentamicin, Erythromycin, Kanamycin, Spiramycin, Tetracycline, Neomycin, Amikacin, Amoxicillin, Ampicillin, Penicillin, Chloromphenicol.

Statistical analyses

Data were analysed with a statistical package (IBM®SPSS®Statistics version 24 for Windows 10), where we used the ANOVA test for the progesterone measurement, the khi2 test for cytology, and also for the pregnancy rate.

RESULTS

Pregnancy rate and fertility :

We noticed that among the 15 mares only 6 conceived representing a rate of 40%, whose 13% during the first cycle and 27% during the other cycles. The other 9 mares (60%) remained empty during this breeding season suggesting that there is a poor fertility.

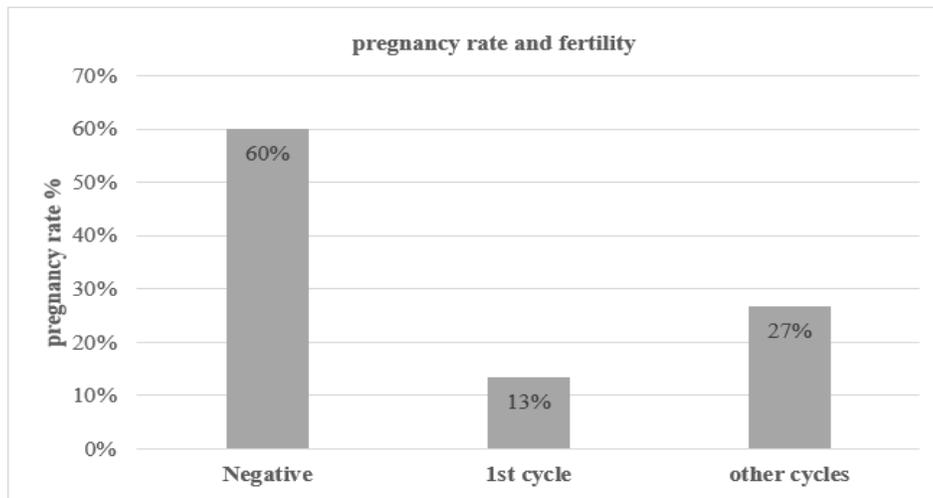


Figure 2. Pregnancy rate and fertility according to the number of cycles in the 15 mares.

Plasma P4 concentration :

Plasma concentration of P4 was less than 1 ng/mL in the 3 samples for all mares and the level of progesterone is increasing during the different collection phases.

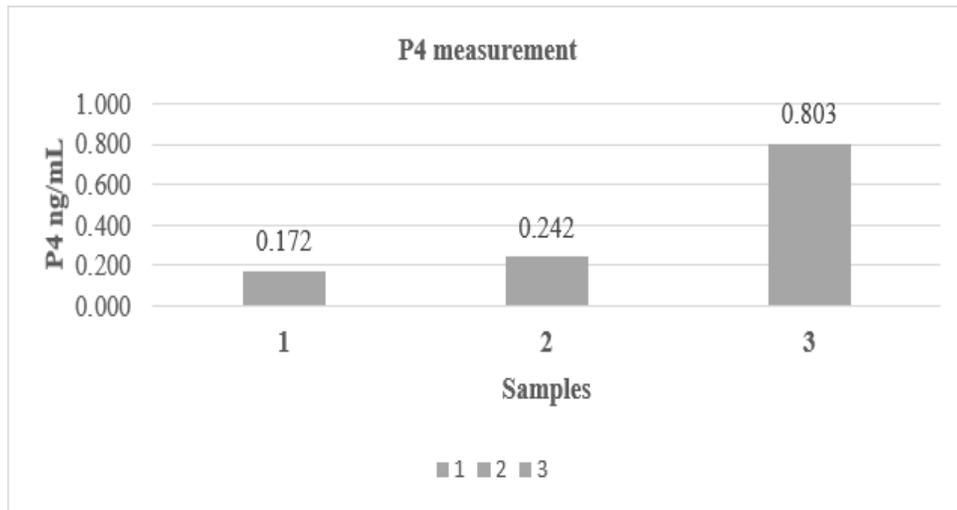


Figure 3. Plasma concentration of P4 during the 3 phases of sampling.

Ultrasonography :

Uterine edema was visually assessed using cross-sectional (B-mode) pictures were taken from both uterine horns. The degree of uterine edema was scored taking existing from 0 to 3, with 0 indicating no edema and 1 to 3 indicating edema of low, moderate, and severe degree (Lüttgenau et al., 2021)

The area of IUF was measured with the same ultrasound scanner (Sonoscape A6), we found the presence of fluids 48 hours after mating only in 4 mares (26%). The left over of the mares had no edema.

Table 1. Ultrasound examination of the mares with uterine edema degree from 0 to 3.

Mare	1	2	3	4
Score	3	1	2	2

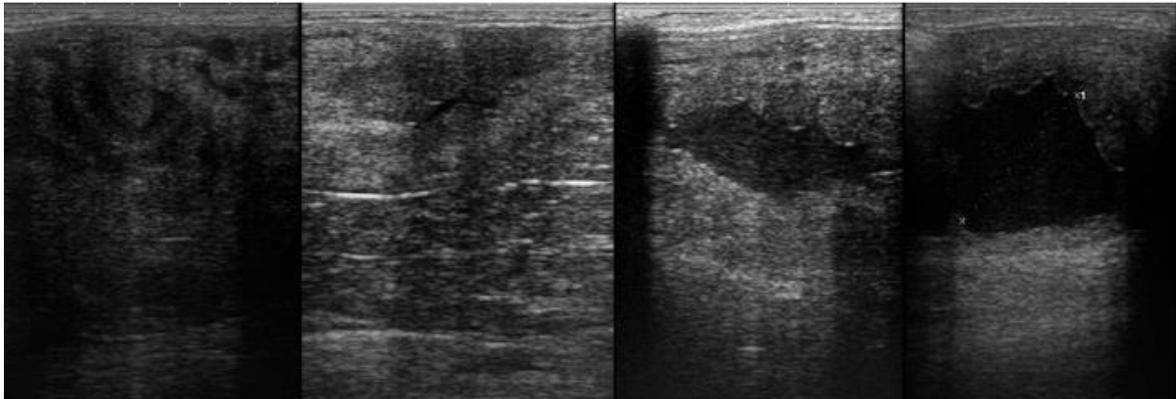


Figure 4. Ultrasound pictures (Score from 0 to 3), (personal pictures).

Cytology and microbiology :

Cytology helped in the diagnosis of PBIE in our study. None of the mares had PMN present 24 hours before mating, but PMN were present as a rule 6 hours after, with more than 5 PMN present in the 3 susceptible mares. 48 hours after mating the PMN disappeared in all mares except those with a IUF score greater than 2 (3 mares).

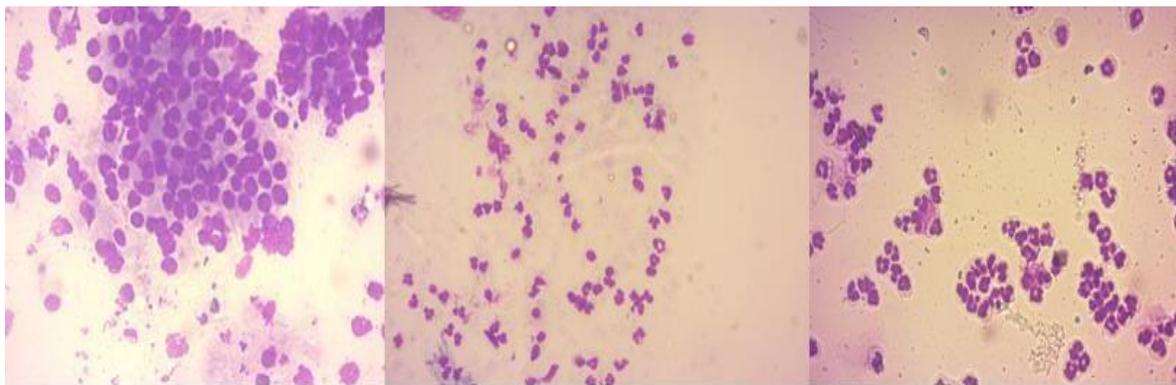


Figure 5 .Endometrial mare's cytology during the 3 phases of sampling
 (sample 1 : endometrial cells; sample 2 : presence of PMN and spermatozoa; sample 3 : More than 5 PMN 48h post-breeding).
 Using Diff-Quick (personal pictures).

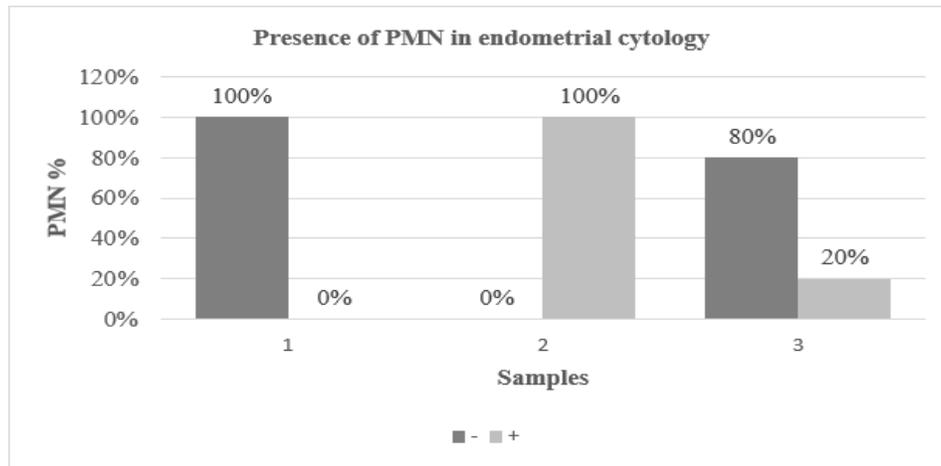


Figure 6. Presence of PMN during the different phases of sampling.

Microbiological examinations revealed the presence of microorganisms as described in the table below in the 3 samples collection for the 15th mares, contamination were suspected when more then three isolates or a small amount of E.coli were identified after enrichment. The left over had not shown any growth of bacteria.

Table 2. Number of microorganism isolated by uterine low volume lavage.

Microorganism	Number of isolates
Escherichia coli	6
Staphylococcus spp	2
Serratia marcescens	1
Enterococcus faecium	6
Photobacterium damsella	1
Aerococcus viridans	2
Serratia odorifera	2
Pasteurella spp	1
Pasteurella trehalosi	1

Antibiotic susceptibility testing and treatment with uterine infusion with antibiotics was only performed if the microbiology results were positive on all three samples, or when the cytology, microbiology and ultrasound examination were positive (>5 PMN and >20mm uterine fluid) on the third sample.

Results from antimicrobial susceptibility were evaluated, the mares developed antibiotic resistance and no antibiotics were effective.

Discussion

In our study the results had shown that 9 mares of the 15th had not conceived, 3 of the empty mares were PBIE positive representing an infertility rate of 33.33% , which leads us to review and control other causes of infertility.

The susceptibility to PBIE in our study remains unknown as the mares prone to PBIE here are not old, there is even a maiden mare,all with a great score body, no anatomical predisposing factors, but sterility and non-conception in previous seasons, which is in contradiction with previous research showing that susceptibility to PBIE is age and parity (Ricketts and Alonso, 1991 ; Carnevale and Ginther, 1992).

We have noticed that progesterone levels were rising from the first sample to the last while ovulation with levels still below 1ng/ml showing physiological values as indicated in a previous research of

Terblanche and Maree. (1981), without any decrease in PBIE positive mares which are not consistent with research indicating that blood progesterone (P4) concentration decreased in mares with uterine inflammation, reflecting lower corpus luteum (CL) function (Ginther et al., 1985 ; Adams et al., 1987).

Consequently, a relationship between PBIE and the progesterone P4 concentration is not probable in the present study, on the contrary, this assay allowed us to confirm that the mares did not have hormonal problem that could influence the appearance of PBIE in the mares studied.

As mentioned by the other authors, an approach that is frequently used to examine inflammation of the equine endometrium is the assessment of IUF accumulation as determined by ultrasonography (Brinsko et al., 2003 ; McKinnon et al., 1988).

It is assumed that the presence of 2 or more cm of fluid is a reliable predictor of PBIE susceptibility confirmed by Lüttgenau et al. (2021), which was confirmed in our study, mares with confirmed PBIE had ≥ 2 cm of fluid retention in the uterus while examination.

In healthy mares, the first PMN cells are found in the uterus 0.5 hours after artificial insemination (AI), peaking at 8 hours, continuing elevated until 24 hours, and then nearly disappearing 48 hours later (Wojtysiak et al., 2020).

In our study the results were the same, PMN were very present at 6 hours after AI, and then disappear at 48 hours, but we found that in mares where the number of PMN exceeded 5 per field after 6 hours of AI, the disappearance of inflammation did not occur after 48 hours and the number of PMN did not decrease also the persistence of fluids remained, the mares developed PBIE in these cases.

Stating that cytology alone does not confirm endometritis as indicated by Reilas et al. (1997) and De Borba et al. (2012), but the combination of cytology and ultrasonography is an excellent predictor of PBIE as observed in our research.

According to several studies, low volume lavage is the most accurate diagnostic for identifying bacterial endometritis (A Morris et al., 2020). While other mares had positive cytology, their microbial cultures were negative, the non-infectious endometritis brought on by an untreated inflammation would be the most logical explanation for this observation (Díaz-bertrana et al., 2021).

Depending on the study, isolated bacteria in equine endometritis can vary greatly. In general, *Escherichia coli* and *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* are the most frequently isolated bacteria mentioned in the literature (Riddle et al., 2007 ; Frontoso et al., 2008 ; Nielsen, 2005 ; NJ and Ricketts., 1982).

Staphylococcus spp, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* have also been identified as bacteria causing endometritis according to Pyörälä et al. (2014), in our case we found only *E.coli* and *Staphylococcus* spp.

It's possible that uterine sample findings for culture and sensitivity won't be available in time to guide treatment choices as indicated by Morris et al. (2020), in our case antibioresistance was a second cause for not treating the mares with antibiotic infusions so the treatment was based on uterine lavage with saline or ringer lactate as mentioned by Allen et al. (2007), LeBlanc and Caussey. (2009), especially when the PBIE mares did not have endometritis of infectious origin in our case. But It is believed that the timing of the post-breeding uterine lavage is more crucial than the choice of the lavage fluid (Morris et al., 2020).

Mares were treated 48h after breeding because lavage at 0.5 or 2 hours after insemination reduced the pregnancy rate (Brinsko et al., 1990).

CONCLUSION

Based on our results, we can conclude that mares' infertility can be caused by a variety of factors, some of which may be more anti-conceptual than PBIE. In addition, the progesterone level can not reveal the presence of inflammation, but it is a good indicator of the hormonal state of the mare.

Ultra sonography is the most reliable means for the detection of PBIE in combination with endometrial cytology, adding to this microbiological studies together with sensitivity tests to better identify the endometritis-causing bacteria in the mare and to determine the most effective treatment for infectious endometritis in horses. Furthermore, they are also important to avoid the anarchic and random administration of antibiotics, which have now become almost all resistant.

Acknowledgments. The authors are indebted to Mohamed Amine Aissa, Djillali Aouraie and Karima Ait Namane, Schahrazed Djihane Khelil for help with manipulations in the different laboratories.

REFERENCES

1. Adams, G. P., Kastelic, J. P., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (1987). Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 35, 445-454 ;
2. Allen, W. R., Brown, L., Wright, M., & Wilsher, S. (2007). Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine veterinary journal*, 39(5), 438-445 ;
3. Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Varner, D. D., & Blanchard, T. L. (2003, November). A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. In *AAEP Proc* (Vol. 49, pp. 363-365) ;
4. Brinsko, S. P., Varner, D. D., Blanchard, T. L., & Meyers, S. A. (1990). The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, 33(2), 465-475 ;
5. Bucca, S., Carli, A., Buckley, T., Dolci, G., & Fogarty, U. (2008). The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*, 70(7), 1093-1100 ;
6. Canisso, I. F., Segabinazzi, L. G., & Fedorka, C. E. (2020). Persistent breeding-induced endometritis in mares - A multifaceted challenge: From clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1432 ;
7. Carnevale, E. M., & Ginther, O. J. (1992). Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, 37(5), 1101-1115 ;
8. Christoffersen, M., Söderlind, M., Rudefalk, S. R., Pedersen, H. G., Allen, J., & Krekeler, N. (2015). Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by *Streptococcus zooepidemicus*. *Theriogenology*, 84(8), 1283-1290 ;
9. De Borba, E. V. C., Camozzato, G. C., Malschitzky, E., Bustamante-Filho, I. C., Martins, A. A., Mattos, R. C., & Neves, A. P. (2012). Is the presence of uterine fluid a reliable indicator of endometrial inflammation. *Pferdeheilkunde*, 28(1), 27-29 ;
10. Díaz-Bertrana, M. L., Deleuze, S., Pitti Rios, L., Yeste, M., Morales Fariña, I., & Rivera del Alamo, M. M. (2021). Microbial prevalence and antimicrobial sensitivity in equine endometritis in field conditions. *Animals*, 11(5), 1476 ;
11. Frontoso, R., De Carlo, E., Pasolini, M. P., van der Meulen, K., Pagnini, U., Iovane, G., & De Martino, L. (2008). Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. *Research in veterinary science*, 84(1), 1-6 ;
12. Ginther, O. J., Garcia, M. C., Bergfelt, D. R., Leith, G. S., & Scraba, S. T. (1985). Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, 24(4), 409-417 ;
13. Katila, T. (1995). Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biology of Reproduction*, 52(monograph_series1), 515-517 ;
14. Katila, T. (2012). Post- mating inflammatory responses of the uterus. *Reproduction in domestic animals*, 47,31-41 ;
15. Kotilainen, T., Huhtinen, M., & Katila, T. (1994). Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, 41(3), 629-636 ;
16. LeBlanc, M. M., & Causey, R. C. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 10-22 ;
17. LeBlanc, M. M., Neuwirth, L., Asbury, A. C., Tran, T., Mauragis, D., & Klapstein, E. (1994). Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 26(2), 109-113 ;
18. Lüttgenau, J., Imboden, I., Wellnitz, O., Romer, R., Scaravaggi, I., Neves, A. P., ... & Bollwein, H. (2021). Intrauterine infusion of killed semen adversely affects uterine blood flow and endometrial gene expression of inflammatory cytokines in mares susceptible to persistent breeding-induced endometritis. *Theriogenology*, 163, 18-30 ;
19. McKinnon, A. O., Squires, E. L., Harrison, L. A., Blach, E. L., & Shideler, R. K. (1988). Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition: Effect of involution and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(3), 350-353 ;

20. Morris, L. H., McCue, P. M., & Aurich, C. (2020). Equine endometritis: A review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 160(5), R95-R110 ;
21. Nielsen, J. M. (2005). Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 64(3), 510-518 ;
22. NJ, W. D., & Ricketts, S. W. (1982). Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice 1978-1981. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 32, 181-185 ;
23. Prieto, M., Barrio, M., Quintela, L. A., Perez-Martin, C. C., Becerra, J. J., Vigo, M., ... & Herradon, P. G. (2012). Validation of a simple method for the interpretation of uterine cytology in cows. *Veterinari Medicina*, 57(7), 360-363 ;
24. Pyörälä, S., Taponen, J., & Katila, T. (2014). Use of antimicrobials in the treatment of reproductive diseases in cattle and horses. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 16-26 ;
25. Reilas, T., Katila, T., Mäkelä, O., Huhtinen, M., & Koskinen, E. (1997). Intrauterine fluid accumulation in oestrous mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 38(1), 69-78 ;
26. Ricketts, S. W., & Alonso, S. (1991). The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine veterinary journal*, 23(3), 189-192 ;
27. Riddle, W. T., LeBlanc, M. M., & Stromberg, A. J. (2007). Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, 68(3), 395-402 ;
28. Terblanche, HM and Maree, L. (1981). Plasma progesterone levels in the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *Journal of the South African Veterinary Association*, 52(3), 181-185 ;
29. Traub-Dargatz, J. L., Salman, M. D., & Voss, J. L. (1991). Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(10), 1745-1747 ;
30. Troedsson, M. H. T. (1999). Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, 52(3), 461-471 ;
31. Troedsson, M. H. T., Crabo, B. G., Ibrahim, N., & Scott, M. (1995). Mating-induced endometritis: mechanisms, clinical importance, and consequences. In *Proceedings of the... annual convention* ;
32. Wojtysiak, K., Ryszka, W., Stefaniak, T., Król, J., & Kozdrowski, R. (2020). Changes in the secretion of anti-inflammatory cytokines and acute-phase proteins in the uterus after artificial insemination in the mare. *Animals*, 10(12), 2438 ;
33. Woodward, E. M., & Troedsson, M. H. (2013). Equine breeding-induced endometritis: A review. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(9), 673-682 ;
34. Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Betancourt, A., Horohov, D., Scoggin, K. E., ... & Troedsson, M. H. T. (2013). Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction*, 145(3), 289-296 ;
35. Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Squires, E. L., & Troedsson, M. H. T. (2012). Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: Relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. *Theriogenology*, 78(3), 495-501 ;
36. Zerbe, H., Schuberth, H. J., Engelke, F., Frank, J., Klug, E., & Leibold, W. (2003). Development and comparison of in vivo and in vitro models for endometritis in cows and mares. *Theriogenology*, 60(2), 209-223 ;