ZV0000592

Mic. Div. OK

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES

DAKAR-HANN

592

6

MICROFLORE BACTERIENNE NORMALE VAGINALE
ET PREPUTIALE CHEZ LES BOVINS AU SENEGAL

Par M. KONTE

REF. 08/MICROBIOLOGIE
JANVIER 1986

**MICROFLORE BACTERIENNE NORMALE VAGINALE
ET PREPUTIALE CHEZ LES BOVINS AU SENEGAL**

Par M KONTE *

Cette étude a pour but de définir le profil général qualitatif de la microflore des segments génitaux externes de la vache et du taureau cliniquement normaux, dans ses rapports avec le pH et dans son évolution dans le temps.

Elle revêt un triple intérêt, dogmatique, physiologique et pathologique (4).

En effet, la connaissance systématique de la composition qualitative réalise une dimension générale et fondamentale en pathologie comparée.

Par ailleurs, la présence ou l'absence d'une flore autochtone, vaginale et préputiale, doit être étudiée sous l'angle physiologique du caractère symbiotique ou parasitaire, nécessaire ou non, de ses résidents.

Enfin, la recherche des causes microbiennes de la stérilité, ou autres manifestations pathologiques de la reproduction chez la vache, réclame, en pathogynécologie, la définition qualitative et quantitative de la flore autochtone par rapport à la flore essentiellement pathogène.

Ce travail intéresse les animaux pubères et impubères, mâles et femelles, tous normaux, appartenant aux races locales (Taurins Ndama et Zébus Gobra) et aux races importées (Taurins Montbéliards et Zébus Pakistanaïls).

I - MATERIEL, METHODES ET TECHNIQUES

1°) - Les animaux

L'étude menée constitue la première approche d'un programme de recherche à réaliser au service de Bactériologie.

*** Pour tout détails, voir : Ecologie bactérienne des parties distales du tractus génital chez les bovins au Sénégal - Mémoire de confirmation de M KONTE, Docteur Vétérinaire - REF. N° 112/MICROBIO - NOVEMBRE 1985 - LNERV - B.P. 2057 DAKAR-HANN.**

Nous avons choisi, pour asseoir une méthodologie définitive, de travailler dans les stations, où l'élevage est de type amélioré, semi-intensif. Cette situation offre l'avantage de disposer des mêmes animaux pendant une période suffisamment longue pour permettre une répétition des analyses dans le temps. Par ailleurs, compte tenu de l'ampleur du travail de laboratoire qu'un seul animal peut occasionner pour une identification systématique des genres bactériens, nous avons réduit l'effectif expérimental et retenu le chiffre de 20 sujets par station; répartis comme suit : 5 femelles pubères, 5 femelles impubères, 5 mâles adultes, 5 mâles impubères, ceci pour les stations, de Kolda et Dahra (Centre de Recherches Zootechniques) car l'opération n'a concerné que les adultes pour la station de Sangalkam

Ces animaux sont visités en deux périodes, février-mars et août-septembre.

2°) - Matériel et techniques de prélèvement

a) - Prélèvement de mucus vaginal

Il est réalisé par écouvillonnage du fornix et de l'exocol à l'aide d'un spéculum vaginal et d'une longue pince à forcipressure droite.

L'écouvillon, modèle "Culturett" de la firme "Scientific products", se compose d'une tige en plastique de 15 cm de long, portant, fixé à un bout, du coton cardé et coulissant dans un tube stérile dont le fond contient 0,5 ml d'un milieu de transport (Modified Stuart's Bacterial transport Medium). La tige de l'écouvillon est fixée au fond d'un tube court servant de bouchon au tube protecteur. La pince à forcipressure prolonge l'écouvillon pour atteindre le fornix, distant d'environ 40 cm à travers le spéculum vaginal mesurant 30 cm de long et 3 cm de diamètre.

b) - Prélèvement du liquide de rinçage du prépuce

Il nécessite une seringue en verre, de 50 à 100 ml et de l'eau bidistillée stériles. On procède par irrigation et siphonnage de la cavité préputiale. Le prélèvement est conservé dans un tube à essai de diamètre 22 mm également stérile bouché au coton cardé.

L'ensemble du matériel de prélèvement ne doit subir aucune désinfection chimique préjudiciable à la vitalité de la flore recherchée, mais être soumis à un autoclavage classique.

c) - M e s u r e d u p H

Elle est effectuée à l'aide de papier indicateur sensible à 0,2 unités (Modèle Oxyphen-Switzerland) de 6,4 à 7,6, in situ pour le milieu vaginal, dans le tube de récolte pour le liquide de rinçage du prépuce.

3°) - Bactériologie

a) - Recherche de germes anaérobies et aéro-anaérobies facultatifs

(AAF) : ensemencement de milieux de culture divers (bouillon VF glucosé à 1%, gélose profonde VF à 6 p. 1000, gélose VL-sang) ; bactérioscopie après coloration de Gram (2,3).

b) - Recherche non spécifique de germes aérobies et AAF

Culture en bouillon nutritif, sur gélose nutritive, gélose-sérum, gélose molle profonde VF, bactérioscopie après coloration de Gram ; tests biochimiques d'identification sur plaques API.

c) - Recherche de Brucella

Milieux de culture : brucella-agar modifié + PBC (Polymyxine - Bacitracine - Cycloheximide), milieu trypticase-soja (Bio-Mérieux), gélose molle profonde VF, bactérioscopie après coloration de Gram ; spécification réalisée au Laboratoire de Pathologie de la Reproduction à Nouzilly en France.

d) - Recherche de Mycoplasmes

Milieu sélectif solide : Heart Infusion Broth Difco (H.I.B.) + agar + extrait de levure fraîche à 25 % + sérum de cheval décomplémenté + pénicilline (L-S-R), pour isolement direct ; clonage en milieu liquide (HIB + L-S-P ou bouillon tryptose-pénicilline + S-L) ; bactérioscopie par examen d'un état-frais (1).

e) - Recherche de germes acido-alcoolo-résistants (AAR)

Milieu sélectif d'isolement des Mycobactéries (Loewenstein-Jensen) ; bactérioscopie après coloration de Ziehl pour définir le groupe.

f) - Recherche de Lactobacilles

Milieu sélectif d'isolement, bouillon et gélose MRS ; coloration de Gram ; spécification sur plaques API.

g) - Recherches de Corynébactéries

Milieux de culture favorables : milieu de LOEFFLER et sérum coagulé ; coloration de Gram ; identification sur plaques API.

h) - Recherches de Listeria

Ensemencement de bouillon tryptose maintenu à +4°C pendant 10 jours comme procédé d'enrichissement, gélose-mobilité ; bactérioscopie sur état-fais et après coloration de Gram ; identification sur plaques API.

i) - Recherche de Streptocoques

Ensemencement milieu sélectif pour Strstptocoquas (IPP), gélose au sang de mouton ; bactérioscopie après coloration de Gram ; sérogroupage par "Slidex Strepto-Kit" (Bio-Mérieux).

j) - Recherche de Staphylocoques

Milieu sélectif d'isolement (milieu de CHAPMAN), bouillon pour staphylocoagulase, plasma de lapin lyophilisé, bouillon nutritif ; coloration de Gram ; épreuve de la coagulase.

II - RESULTATS

1°) - Profil général de la microflore vaginale et préputiale

(voir tableau des pourcentages d'animaux porteurs).:

- Il existe une microflore bactérienne chez tous les animaux visités durant lieu à un profil général.

- Cette microflore est hétérogène et variable en nombre d'espèces

MICROFLORE VAGINALE ET PREPUTIALE :
POURCENTAGE D'ANIMAUX PORT-EURS

Germes	% en saison sèche et fraîche	% en saison des pluies
- Gram négatifs	<u>11,40</u>	<u>6,85</u>
. E. coli	16	1,66
. P. mirabilis	25	1,66
. Providencia sp.	3,33	0
. Enterobacter cloacae	10	1,66
. Pseudomonas aeruginosa	1,66	56,66
. Alteromonas putrefasciens	13,33	0
. Alcaligenes foecalis	3,33	0
. CDC groupe VE ₁	6,66	0
. Nelsseria sp.	23,33	0
- Gram positifs	<u>36,90</u>	<u>28,33</u>
. C. pyogenes	60	61,66
. C. renale	0	5
. Lactobacillus casei	18,33	28,33
. Bacillus sp.	76,66	43,33
. Streptocoques D	81,66	31,66
. Diplococcus sp.	11,66	3,33
. Staphylocoques NP	10	25
- A-A-R		
- Clostridium sp.	<u>29,09</u>	<u>20</u>
- Mycoplasma sp.	<u>45,45</u>	38

E. coli = **Escherichia coli**

P. mirabilis = **Proteus mirabilis**

CDC groupe VE₁ = **Bactéries proches du genre Chrombacterium**

C. pyogenes = **Corynebacterium pyogenes**

A-A-R = **Acido-alcoolo-résistants**

mais surtout en quantité au niveau des troupeaux.

« La microflore à Gram positif domine toujours celle à Gram négatif, chez toutes les races, au cours de toutes les saisons et pour tous les âges retenus.

« Parmi les constituants 3 Gram positif, les cocci sont isolés en majorité (Streptocoques et aussi Staphylocoques non pathogènes); cependant, les bacilles sont aussi fréquemment mis en évidence (surtout Bacillus sp. et Corynebacterium). Il faut noter la présence non négligeable d'anaérobies stricts du genre Clostridium.

« Les constituants de la flore à Gram négatif sont surtout représentés par les Pseudomonas, en certaine période (hivernage). Les Enterobactériens sont beaucoup plus rares (E. (Protéus mirabilis, Providencia sp., Enterobacter)). Beaucoup d'autres germes ne sont isolés qu'en saison sèche et fraîche (Alteromonas, Alcaligenes, CDC groupe VE, (Bactéries proches du genre Chromobacterium), Neisseria).

« Des germes acidé-alcool-résistants sont mis en évidence en hivernage chez les bovins sénégalais uniquement.

« Aucun Brucella ni aucun Listeria n'ont été observés.

2° - Variation de la flore en fonction de la saison

Certains germes sont des résidents permanents, seulement variables en nombre (cas de tous les germes à Gram positif isolés), d'autres sont absents à une certaine période (seulement les Gram négatif, comme les genres Providencia, Alteromonas, Alcaligenes, CDC groupe VE, Neisseria, isolés seulement en saison sèche, février-mars).

Les Pseudomonas ne sont mis en évidence qu'en saison des pluies (août-septembre).

3° - Variation de la flore en fonction du pH

Les valeurs du pH varient très peu et restent localisées dans la zone d'acidité, entre 5,3 et 6,9 avec tendance à la neutralité, toutes races et tous sexes confondus. On note qu'à un pH très acide, correspond soit la présence de

Streptocoques, soit une augmentation globale de la microflore résidente.

III - DISCUSSION

- La microflore bactérienne implantée dans le vagin et le sac préputial apparaît de type fécal avec une forte représentation des Entérocoques, mais aussi des Corynébactéries, des Bacillus et Lactobacillus, ainsi que des Colibacilles et des Neisseris. Elle résulterait d'une pollution d'origine anale.

- Elle ne semble affecter la santé génitale des sujets que de façon sporadique et circonstancielle, souvent localement.

- Les variations de cette flore n'obéiraient à aucune règle et leur diversité renforcerait l'hypothèse d'une pollution fécale. Dès lors, le rôle symbiotique et protecteur reste discutable. Le rôle infectant, apte à déterminer des accidents abortifs est à retenir pour des germes spécifiques tels Brucella et Mycobacterium.

- Il n'y aurait pas de variation de profil quant à la microflore résidente de l'adulte (mâle et femelle) comparée à celle des jeunes (impubères mais sevrés, dans notre cas) ; tout au plus, une légère différence quantitative prévaudrait.

- Les relations de la flore vaginale et préputiale avec le pH se font dans le sens d'une acidification du milieu, par l'action de germes lactiques et acidogènes. Il y a ainsi, variation du pH en fonction de la flore.

- La saison, en ce qu'elle influe sur la température ambiante et les conditions d'alimentation, et donc sur la résistance des animaux aux diverses agressions (microbiennes notamment.), favorise l'implantation de tel ou tel germe.

CONCLUSION

La microflore bactérienne normale vaginale et préputiale a été étudiée afin de déterminer le statut infectieux de ses divers composants.

Le profil général de cette flore revêt une allure fécale ; il pourrait résulter d'une contamination d'origine anale. Cependant, des germes isolés tels Pseudomonas, Corynebacterium, Streptococcus, Mycoplasma, sont potentiellement pathogènes.

L'espèce animale à laquelle appartient l'hôte semble moins déterminante pour le profil de la flore que la race, si ce n'est simplement les conditions de milieu (physique et chimique) réalisées au niveau de l'organe cible.

Au cours du temps, on note une variation peu importants du profil sur le plan qualitatif (en exemple, les Pseudomonas ne sont retrouvés qu'en hivernage alors que la majorité des Gram négatif ne le sont qu'en saison sèche), mais significative quantitativement.

Le pH est peu affecté par la flore, mais sa valeur reste localisée dans la zone d'acidité, plus ou moins élevée en fonction du profil et de l'abondance des germes.

R E S U M E

L'auteur procède à un inventaire bactériologique systématique des segments génitaux externes, vestibule-vaginal et préputial, des bovins locaux, mâles et femelles, cliniquement normaux.

Il s'efforce de définir la nature des relations existant entre le profil général de la microflore, le pH et les facteurs d'environnement afin de déterminer le caractère parasitaire ou symbiotique, nécessaire ou non, de ces résidents.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - AL-AUBAIDI (J.M.), FABRICANT (J.) - *Cor. Vet.* 58, 4, 555, 1968.
- 2 - BERG (J.N.) - *Ann. J. Vet. Res.*, 1979, 40 : 876-881
- 3 - BERKHOFF (G.A.) - *Vet. Microbiol.*, 1978, 2 : 237-252.
- 4 - JOUBERT (L.), KHALIL (O.), BERTRANS (M.) et DESCHANEL (J.F.) - *Bull. Soc. Sci, Vet. et Méd, comparée, LYON*, 1971, 73