



**HAL**  
open science

# Déterminisme génétique du pyomètre : synthèse bibliographique et établissement d'une cohorte multi-races

Axel Croizon

► **To cite this version:**

Axel Croizon. Déterminisme génétique du pyomètre : synthèse bibliographique et établissement d'une cohorte multi-races. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04300652

**HAL Id: dumas-04300652**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04300652v1>

Submitted on 22 Nov 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Année 2023

# DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DU PYOMÈTRE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTABLISSEMENT D'UNE COHORTE MULTI-RACES

## THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

## DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 26 septembre 2023

par

**Axel, Jean-Michel, Claude CROIZON**

sous la direction de

**Lucie CHEVALLIER**

## JURY

<b>Président du jury :</b>	<b>M. Grégory Jouvion</b>	Professeur à l'ENVA
<b>Directrice de thèse :</b>	<b>Mme Lucie Chevallier</b>	Maître de conférences à l'ENVA
<b>Examineur :</b>	<b>M. Alain Fontbonne</b>	Professeur à l'ENVA



Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version juillet 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Ad Du	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	professeur	DEPEG
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Kadu	professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Saoine	*rofesseur	DEPEC
M	Chateau	Henry	professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	*rofesseur	DEPEC
	Crevier-Denoix		Professeur	
M	Degueurce	Inx soche	professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Maïne	professeur	DEPEC
M	Desibet	Lo+c	professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloil	Marc	professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	professeur émérite	DEPEC
M	Foerighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	professeur	DEPEC
Mme	Gilben	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	*rofesseur	DEPEC
Mme	Grimard Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	professeur	DPASP
M	Jourvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhaer	Matthias	*rofesseur	DSBP
Mme	LePode	SoDhie	professeur	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences HDR	DSBP
M	Manasse	Mathieu	*rofesseur	DEPEC
M	Milemann	Yves	*rofesseur	DPASP
Mme	PichSorck	Fanny	Woesseur	DSBP
M	Poney	Andrew	*rofesseur	DPASP
	Risco-Castillo	Véronica		
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Cétine	professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	professeur	DSBP
M	Tksier	Renaud	professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Rattachés de conférences et Ingénieurs de recherche DCV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Babaino	Alix	ingénieur recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benckroun	Chita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Beloni	Leïa	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Canon ne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Luca	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cachet-Faivre	NoëTTe	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Le fort	Nahia	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	vrgIn+e	Ingénieur recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemfle	Maître de conférences	DSBP
M	Crozet	GGLume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	AWne	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences	DPASP
Mme	Devis	Maïne	Ingénieur recherche (DCV)	DPASP
M	Deshuillers	Pere	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guélin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Legrand	Griantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammari	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Mérignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Mérito	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Milmet	Narès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Reyary-Plumocri	Beangée	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes Gomez	Edoald	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Beéue	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquere1	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC



# **Remerciements**

## **Au Président du Jury de cette thèse, Mr Grégory Jouvion, Professeur à l'EnvA**

Pour m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse et pour la transmissions de vos connaissances.

## **À Madame Chevallier, directrice de thèse, Maitre de conférences à l'EnvA,**

Pour avoir accepté de diriger cette thèse, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et son soutien pendant cette année. Pour m'avoir épaulé pendant les manipulations expérimentales. Mes très sincères remerciements.

## **À Monsieur Fontbonne, examinateur, Professeur à l'EnvA**

Pour m'avoir fait honneur de participer à ce jury de thèse. Pour sa disponibilité, ses nombreux conseils dans l'établissement de sa thèse. Pour son soutien en clinique et sa grande aide dans le choix de ce sujet. Mes très sincères remerciements.

## **À Madame Pasquet, docteur vétérinaire**

Pour m'avoir permis de travailler conjointement dans l'établissement de cette thèse et notamment en proposant cette étude expérimentale à sa clientèle. Pour me faire confiance, m'épauler et me prodiguer des précieux conseils depuis un an. Mes remerciements les plus sincères.

**A ma famille et à mes amis,** pour votre amour, vos conseils et votre soutien infailible. Merci beaucoup.



# Table des matières

---

<b>Liste des figures</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>5</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>7</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>9</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b> .....	<b>11</b>
1. Rappels : Anatomie de l'utérus et physiologie du cycle sexuel.....	11
A. <i>L'utérus : structure et anatomie</i> .....	11
a.1 Anatomie.....	11
a.2 Structure .....	13
B. <i>Cycle sexuel</i> .....	13
b.1 Proœstrus .....	13
b.2 Œstrus .....	15
b.3 Dicœstrus.....	15
b.4 Anœstrus .....	16
C. <i>Modifications de l'endomètre au cours du cycle sexuel</i> .....	17
2. Le Pyomètre : synthèse bibliographique.....	19
A. <i>Étiologie</i> .....	19
B. <i>Signes cliniques</i> .....	19
C. <i>Physiopathologie du pyomètre</i> .....	20
D. <i>Modifications de la cascade de régulation de certains gènes lors de pyomètre</i> .....	24
E. <i>Diagnostiquer un pyomètre</i> .....	26
e.1 Critères épidémio-cliniques .....	26
e.2 Modifications hématologiques et biochimiques.....	26
e.3 La cytologie vaginale.....	29
e.4 Les examens d'imagerie.....	29
F. <i>Le traitement du pyomètre : chirurgical et médical</i> .....	32
f.1. Le traitement chirurgical : l'ovario-hystérectomie .....	34
f.2 Le traitement médical.....	34
3. Les facteurs de risque du pyomètre .....	38
A. <i>Anatomique</i> .....	38
B. <i>Critère épidémiologique</i> .....	38
C. <i>Prédisposition raciale</i> .....	39
D. <i>Traitement hormonal iatrogène</i> .....	43
E. <i>Gènes de prédisposition</i> .....	44
e.1 Gène <i>ABCC4</i> .....	46
e.2 Gène « <i>TESMIN</i> ».....	48
<b>Deuxième partie : Étude rétrospective entre 2002 et 2022 sur des chiennes atteintes de pyomètres présentées au CHUV-AC de l'EnvA</b> .....	<b>51</b>
1. Introduction.....	51
2. Matériels et méthodes .....	51
3. Résultats .....	52
A. <i>Histogramme des races des chiennes atteintes de pyomètre</i> .....	52
B. <i>Signes cliniques, pyramide des âges et répartition pyomètre col ouvert/col fermé</i> .....	57
4. Discussion .....	59
<b>Troisième partie : Création d'une cohorte multi-races de chiennes atteintes de pyomètre</b> ....	<b>61</b>
1. Introduction .....	61
2. Matériels et méthodes .....	62
A. <i>Recrutement des chiennes</i> .....	62
B. <i>Extraction d'ADN</i> .....	62
C. <i>Mesure de la qualité des ADN obtenus</i> .....	62



3. Résultats .....	62
4. Discussion .....	64
<b>Conclusion .....</b>	<b>65</b>
<b>Liste des références bibliographiques .....</b>	<b>67</b>
<b>Annexe 1 .....</b>	<b>73</b>
<b>Annexe 2 .....</b>	<b>74</b>
<b>Annexe 3 .....</b>	<b>75</b>
<b>Annexe 4 .....</b>	<b>76</b>
<b>Annexe 5 .....</b>	<b>78</b>

# Liste des figures

---

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital de la chienne schématisé (Howard et De Lahunta 2012)..	12
Figure 2 : Cycle endocrinien associé au cycle sexuel chez la chienne (Tiret, 2019) .....	14
Figure 3 : Concentrations en progestérone chez les chiennes gestantes (n=98) et non gestantes (n=23) à trois temps : T1 (11-19 jours, post-ovulation), T2 (23-32 jours, post-ovulation), T3 (52-60 jours post-ovulation) (Hinderer et al., 2021).....	16
Figure 4 : Illustrations des modifications de l'épithélium glandulaire au cours du cycle sexuel (Barrau et al., 1975) .....	18
Figure 5 : Images des résultats histologiques au MET (grossissement inconnu) de l'examen des tissus utérins de chienne atteinte de CEH/pyomètre (Hagman, 2023).....	21
Figure 6 : Incidence du pyomètre chez la chienne après inoculation induite d' <i>E.Coli</i> au sein de l'utérus à différents moments après le pic de LH et ainsi à différentes concentrations en progestérone (Tsumagari et al., 2005).....	23
Figure 7 : Quantification de la transcription des gènes ( <i>TRL4</i> , <i>TLR2</i> , <i>PGE2</i> , <i>PGFS</i> , <i>COX2</i> ) chez des chiennes saines et des chiennes atteintes de pyomètre (Silva et al., 2010).....	25
Figure 8 : Cytologie vaginale d'une chienne atteinte d'un pyomètre (Mir and Fontaine, 2009) .....	29
Figure 9 : Image échographique d'un pyomètre chez une chienne Whippet de 11ans (Pollard et Hecht, 2015).....	30
Figure 10 : Échographie d'une chienne atteinte d'un pyomètre.....	30
Figure 11 : Image échographique de pyomètre (Hagman, 2023).....	30
Figure 12 : Image échographique d'une hyperplasie glandulokystique (Hagman, 2023) .....	31
Figure 13 : Image macroscopique d'une hyperplasie glandulokystique (Hagman, 2023).....	31
Figure 14 : Radiographies abdominales d'une chienne atteinte d'un pyomètre (Hagman, 2022) .	32
Figure 15 : Arbre décisionnel de la prise en charge d'un pyomètre (Bourgois,2009).....	33
Figure 16 : Protocole de traitement médical pour un pyomètre (1 <sup>ère</sup> partie) (Hagman, 2023) .....	36
Figure 17 : Protocole de traitement médical pour le pyomètre (2 <sup>ème</sup> partie) (Hagman, 2023).....	37
Figure 18 : Facteurs épidémiologiques associés à la présence de pyomètre (Hagman et al., 2011). .....	38
Figure 19 : Etude d'association pangénomique du pyomètre chez le Golden Retriever (Arendt et al., 2021) .....	44
Figure 20 : Quatre polymorphisme du gène <i>ABCC4</i> (Arendt et al., 2021).....	45

Figure 21 : Modèle d'homologie de la protéine MRP4 humaine (Rius et al., 2005) .....	47
Figure 22 : Histogramme des races présentées au CHUVA entre 2002 et 2022 et diagnostiquées pour pyomètre .....	53
Figure 23 : Histogramme des races des chiennes présentées aux chuva et atteinte de pyomètre. Répartition en fonction des différents groupes de chiens établi par la FCI .....	54
Figure 24 : Pyramide des âges des chiennes présentées au CHUV-AC en 2002 et 2022 .....	57

# Liste des tableaux

---

Tableau 1 : Signes anamnestico-cliniques chez les chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2023). (N=621) .....	20
Tableau 2 : Bactéries isolées dans l'utérus de chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2023). (N=603 cas).....	22
Tableau 3 : Modifications hématologiques, biochimiques, urinaires chez les chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2022). (N=467) .....	28
Tableau 4 : Riques ajustés de pyomètre et médiane de survie en fonction des différentes catégories d'âges au sein des différentes races (Evengall et al., 2001) .....	41
Tableau 5 : Incidence du pyomètre et des tumeurs mammaires en fonction des différentes races (N=260 000) (Jitpean et al., 2012).....	42
Tableau 6 : Comparaison de l'incidence du pyomètre selon la race et sa représentation dans les chiennes atteintes de pyomètre au CHUV-AC entre 2002 et 2022 .....	55
Tableau 7 : Comparaison des signes cliniques entre l'étude rétrospective et les données de la littérature .....	58
Tableau 8 : Synthèse des informations des chiennes constituant la cohorte de l'étude .....	63



# Liste des abréviations

---

CHUV-AC : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire- Animaux de compagnie

COX2 : cyclooxygénase 2

E2 : 17 b oestradiol

ECMN : endomucine

FCI : Fédération Cynologique Internationale

FSH : hormone folliculo-simulante

GnRH : *gonadotropin releasing hormone* (gonadolibérine)

LH : hormone lutéinisante

NAF1 : *Nuclear Assembly Factor 1 Ribonucleoprotein*

P4 : progestérone

PGF2 $\alpha$  : prostaglandine F2 $\alpha$

TLR : *Toll-like récepteur*

LPS : lipopolysaccharide

S. Aureus : *Staphylococcus Aureus*

SNP : *single nucleotide polymorphisms*

SORBS 1 : *Sorbin and SH3 Domain Containing 1*

OVH : ovario-hystérectomie

OV : ovaire



# Introduction

---

Le pyomètre est l'affection la plus fréquente chez la chienne âgée non stérilisée. Elle signifie littéralement « pus dans l'utérus ». Parmi les pyomètres, on retrouve les pyomètres à col ouvert présentant des signes très évocateurs (écoulements vulvaires, polyuro-polydipsie, vomissements, léthargie) d'un pyomètre. Il existe un second type de pyomètre dit à col fermé souvent associé à des signes plus frustes. Le pyomètre peut s'avérer être une véritable urgence avec des animaux possiblement présentés en état de choc distributif associé à un état inflammatoire généralisé (SIRS) et une défaillance de nombreux organes (MODS). Il est donc important de savoir reconnaître cette maladie (Hagman, 2018).

À l'heure actuelle, il existe deux traitements : le traitement médical et le traitement chirurgical. En 2009, Agnès Bourgois a établi au cours de sa thèse un arbre décisionnel permettant d'adapter le type de traitement en fonction de l'état du bilan anamnestic-clinique. Parmi les dernières décennies, de nombreux protocoles médicaux composés de prostaglandines et/ou d'antiprogestatifs (aglépristone) ont émergé (Hagman, 2023).

Par ailleurs, de nombreux facteurs de risques ont été mis en évidence et comprennent des facteurs anatomiques, épidémiologiques, iatrogènes (traitement hormonal) mais aussi raciaux.

En effet, selon Jitpean et al. en 2012 et Evengall et al. en 2001, il existe une prédisposition raciale au pyomètre. Parmi les races prédisposées, on retrouvera entre autres le Saint Bernard, le Leonberg, le Rottweiler, l'Iris Wolfhound, le Cane Corso (Jitpean et al., 2012).

Qui plus est, en 2001, Arendt et al. se sont intéressés à une possible prédisposition génétique. Ils mettent en évidence une association statistique significative au cours d'une étude pangénomique entre le gène *ABCC4* et le pyomètre chez le Golden Retriever. Ce gène *ABCC4* code pour une protéine dont la fonction est de transporter de nombreuses molécules et notamment les prostaglandines.

Au sein de notre étude, nous déterminerons s'il existe une prédisposition raciale au sein d'une population plus restreinte parmi les chiennes présentées au CHUV-AC pour un pyomètre. Nous comparerons également les critères épidémiocliniques de cet échantillon aux données de la littérature.

L'objectif final de cette étude est l'établissement d'une cohorte multi-races de chiennes atteintes de pyomètre afin, de réaliser une banque d'ADN qui pourra être utilisée pour réaliser des analyses génétiques futures.

Nous commencerons notre étude par une synthèse bibliographique en nous intéressant à l'anatomie utérine, au cycle sexuel ainsi qu'aux modifications de l'endomètre lors de ce dernier. Dans cette première partie, nous aborderons le pyomètre par son étiologie, sa pathogénie, son diagnostic et ses traitements. Nous nous intéresserons ainsi aux facteurs de risque du pyomètre et notamment à une potentielle implication de facteurs génétiques.

Dans un second temps, nous nous intéresserons à une étude rétrospective sur l'ensemble des cas de chiennes atteintes de pyomètres et présentées au CHUV-AC entre 2002 et 2022.



Puis, dans un dernier temps, nous aborderons l'établissement de la cohorte multi-races ainsi que la création d'une banque d'ADN pour cette maladie.

# Première partie : Synthèse

## bibliographique

---

### 1. Rappels : Anatomie de l'utérus et physiologie du cycle sexuel

#### A. L'utérus : structure et anatomie

L'appareil génital femelle est constitué d'ovaires, de cornes utérines, d'un utérus, d'un vagin, d'un vestibule, d'une vulve, et d'un clitoris (Howard et De laHunta, 2012).

Le pyomètre étant une affection de l'utérus, nous nous intéresserons donc dans un premier temps à cet organe.

##### a.1 Anatomie

L'utérus de la chienne est qualifié de bipartite, il se compose d'un col (*cervix uteri*), d'un corps court (*corpus uteri*) et de deux cornes (*cornua uteri dextrum* et *sinistrum*). Il est en forme de Y et communique avec les trompes utérines crânialement et le vagin caudalement (Howard et De laHunta, 2012).

Sa taille varie considérablement en fonction de l'âge, des grossesses antérieures, du stade du cycle œstral. Il mesure environ 1,4 à 3 cm de long et de 0,8 à 1 cm de diamètre. Le col de l'utérus mesure quant à lui en moyenne 1,5 à 2 cm de long.

Les cornes utérines d'une chienne de 11 kg mesurent en moyenne 10 à 14 cm de long et 0,5 à 1 cm de diamètre lorsque celle-ci n'a pas encore eu de chiots (Howard et De laHunta, 2012).

Les cornes utérines sont généralement de la même taille et s'unissent à angle aigu avec le corps de l'utérus (Howard et De laHunta, 2012). L'extrémité de chaque corne utérine est reliée à l'ovaire par le ligament propre de l'ovaire. La trompe utérine s'ouvre par la jonction utéro-tubaire dans l'extrémité crâniale de la corne utérine.

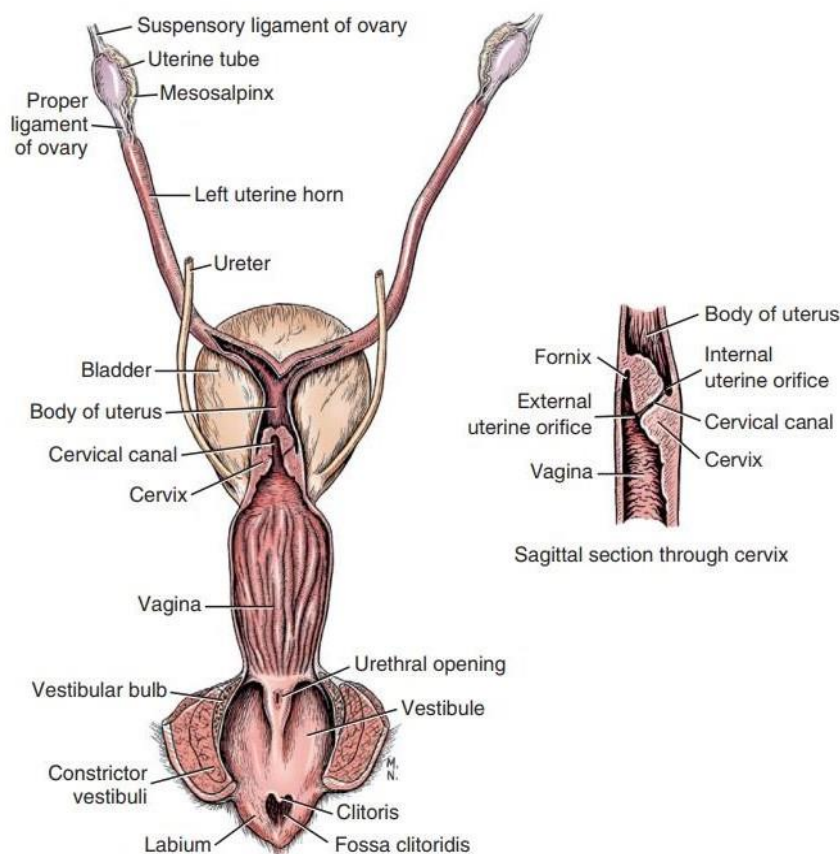
Le corps de l'utérus est généralement situé dans les cavités pelviennes et abdominales et mesure environ 1 cm de long. En général, sa plus grande partie se trouve dans l'abdomen et chez les chiennes multipares, l'ensemble du corps utérin peut se trouver dans la partie crâniale du bassin. Il permet la communication entre le vagin et l'utérus, et/ou l'étanchéité de la cavité utérine (Howard et De laHunta, 2012).

La stabilité de l'utérus est assurée par le ligament large composé de graisses et de muscles lisses qui viennent attacher l'utérus et l'ovaire au niveau de la paroi abdominale. Plus précisément, c'est le mesométrium appartenant au ligament large qui attache l'utérus à la partie dorsolatérale de la paroi abdominale le long de la jonction des muscles psoas et transverse de l'abdomen. Crânialement, les ligaments larges sont attachés au niveau du ligament suspenseur de l'ovaire à la

jonction du tiers distal et médial de la dernière côte. Par ailleurs, la stabilité de l'utérus est aussi assurée en partie par le ligament rond de l'utérus qui s'attache crânialement à la corne utérine ipsilatérale et caudalement au ligament propre de l'ovaire (Howard et De lahunta, 2012).

L'irrigation artérielle de l'utérus est assurée par les artères utérine et ovarienne provenant de l'aorte. La branche utérine de l'artère ovarienne s'anastomose avec l'artère utérine, l'une des principales branches de l'artère vaginale. L'artère pénètre dans le mésométrium au niveau du col de l'utérus. En entrant dans le ligament large, l'artère se trouve relativement proche du corps de l'utérus. Les veines utérines et ovariennes suivent un parcours similaire à celui des artères, sauf à leurs terminaisons. La veine ovarienne droite se jette dans la veine cave caudale au niveau de l'ovaire droit, tandis que la gauche se jette dans la veine rénale gauche (Howard et De lahunta, 2012).

L'innervation sympathique et parasympathique est assurée par le plexus pelvien. En effet, les nerfs pelviens assurent l'innervation parasympathique tandis que les nerfs hypogastriques droit et gauche assurent l'innervation sympathique. Les fibres afférentes viscérales atteignent l'utérus via les nerfs pelviens et le plexus pelvien.



Légendes :

Suspensory ligament of ovary : Ligament suspenseur de l'ovaire

Uterine tube : Trompe utérine

Left uterine horn : Corne utérine gauche

Bladder : Vessie

Body of uterus : Corps de l'utérus

Cervical canal : Canal cervical

Cervix : Col de l'utérus

Vagina : Vagin

Vestibular bulb : Bulbe du vestibule

Constrictor vestibuli : Muscle constricteur de la vulve

Labium : Lèvre

Fossa clitoridis : Fosse clitoridienne

Urethral opening : Ostium urétral

External uterine office : Orifice utérin externe

Internal uterine office : Orifice utérin interne

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital de la chienne schématisé (Howard et De Lahunta 2012).

À gauche se trouve une vue dorsale de cet appareil ouvert partiellement en son milieu tandis qu'à droite se trouve une coupe sagittale du col utérin. (D'après Evans et Miller, 1993 ; Howard et De lahunta, 2012).

## **a.2 Structure**

La paroi de l'utérus est composée de différentes couches. En allant de l'intérieur vers l'extérieur, on retrouve l'endomètre puis le myomètre et enfin la séreuse ou adventice.

L'endomètre (*tunica mucosa*) est la plus épaisse des trois tuniques utérines. Face à la lumière de l'utérus, se trouve une couche d'épithélium cylindrique avec des cellules périodiquement ciliées. Des glandes tubulaires simples et ramifiées sont présentes dans la *lamina propria*. S'ouvrant dans la cavité utérine, ces glandes sont généralement très longues et sont séparées par des glandes ou cryptes plus courtes et inconstantes (Howard et De lahunta, 2012).

Le myomètre (*tunica muscularis*) est composé d'une couche externe mince et longitudinale et d'une couche interne épaisse et circulaire de muscles involontaires. À l'intérieur de la couche circulaire, près de sa jonction avec la couche longitudinale, se trouve une couche vasculaire contenant des vaisseaux sanguins, des nerfs et des fibres musculaires circulaires et obliques. La couche circulaire est particulièrement épaisse dans la région du col de l'utérus (Howard et De lahunta, 2012).

La séreuse entoure l'appareil génital par une tunique fibreuse considérée comme le prolongement des ligaments larges précédemment évoqués (Howard et De lahunta, 2012).

## **B. Cycle sexuel**

La chienne est pubère en général vers l'âge de 6-10 mois (parfois plus) et est cyclée sur l'ensemble de sa vie (absence de ménopause dans l'espèce canine). Le cycle reproductif canin a été historiquement divisé en 4 phases : le proœstrus (phase d'attraction des mâles associée à un refus de l'accouplement), l'œstrus (acceptation du mâle), le dioœstrus (composée d'une phase lutéale qui suit l'accouplement ou l'ovulation) et une phase d'anœstrus (quiescence de l'activité reproductive) (Romagnoli et Lopate, 2017).

Cette classification a été proposée par Heape en 1990, elle est basée sur le comportement et les modifications liées aux organes génitaux externes femelles.

L'espèce canine est, en général, définie comme une espèce mono-œstrienne (une seule phase d'œstrus lors d'un cycle reproductif) non saisonnière même si certaines données de l'American Kennel Club Show tendent à démontrer un pic du nombre de chaleurs vers la fin de l'hiver et de l'été (Romagnoli et Lopate, 2017).

Par ailleurs, l'intervalle entre chaque cycle varie en fonction des espèces même si la majorité des cycles durent environ cinq mois et demi et six mois et demi. Il est également à noter que les grandes races telles que le Berger allemand, le Rottweiler ou le Labrador ont tendance à présenter des cycles sexuels plus courts (Romagnoli et Lopate, 2017).

### **b.1 Proœstrus**

#### **b.1.1 Définition, signes externes et modifications comportementales**

Le proœstrus est défini comme la phase de transition entre la phase d'anœstrus et le début des comportements reproductifs. Elle est définie par des pertes vulvaires sanguines. Elle dure approximativement 10 jours, mais peut varier jusqu'à 4 semaines.

Cette étape débute par le développement des follicules ovariens qui va, dès lors, produire du 17- $\beta$  œstradiol (E2) qui augmente progressivement au cours du proœstrus augmentant ainsi le flux sanguin arrivant au niveau de l'appareil génital. Cette augmentation de E2 va permettre la modification de l'endomètre (provoquant la croissance et la ramification des glandes endométriales avec pour conséquence une augmentation de l'épaisseur de l'endomètre), du col utérin (relâchement du col et augmentation de la sécrétion de mucus par les glandes endométriales), du vagin (en provoquant une croissance des plis de la muqueuse, une augmentation de l'élasticité et de la sécrétion de mucus) et de la vulve (en provoquant une augmentation de l'épaisseur de la muqueuse, un gonflement et une turgescence) (Romagnoli et Lopate, 2017).

### **b.1.2 Modifications hormonales**

Lors de la dernière phase d'anœstrus, au niveau des follicules ovariens, on observe une phase de recrutement, de sélection et de codominance induite par la FSH. Lors de la codominance des follicules tertiaires, une production d'E2 se produit entraînant une stimulation du complexe hypothalamo-hypophysaire à l'origine d'une sécrétion de LH et de FSH. Cette augmentation de FSH et de LH ne permet pourtant pas une pré lutéinisation en début de proœstrus car ces deux hormones sont encore inhibées respectivement par l'E2 à faible dose et l'inhibine.

Au fur et à mesure que la phase proœstrale progresse, les concentrations en E2 vont atteindre leur concentration maximale permettant ainsi un pic en LH. L'E2 joue désormais un rôle d'activateur. On observe 48h-72h après ce pic de LH, une ovulation.

Lors des dernières 24-48h de l'œstrus, on observe une maturation des follicules permettant le développement de tissu lutéal à l'origine d'une augmentation en progestérone (P4) et d'un arrêt de la production en E2. Cette étape est une spécificité du cycle canin et permet d'établir les différentes phases de l'ovulation (Romagnoli et Lopate, 2017).

On retrouve sur la figure n°2 les différentes concentrations hormonales lors des différentes étapes du cycle sexuel et notamment lors de la phase du proœstrus.

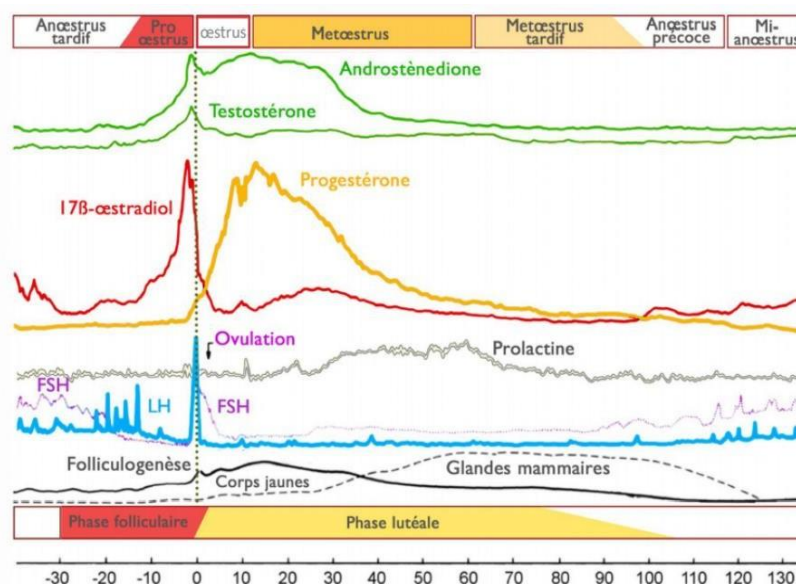


Figure 2 : Cycle endocrinien associé au cycle sexuel chez la chienne (Tiret, 2019).

## ***b.2 Œstrus***

### ***b.2.1 Définition, signes externes et modification comportementales***

L'œstrus est défini comme la période pendant laquelle l'accouplement et l'ovulation se produisent. Lors de cette période les signes cliniques varient peu. Une augmentation de la largeur de la vulve est observée et les saignements vulvaires s'estompent avec le temps. Durant l'œstrus, on observe une augmentation des signaux d'acceptation tels que le clignement vulvaire (Romagnoli et Lopate, 2017) nommée « *flagging* » (déviation de la queue lorsque la vulve est touchée). C'est notamment cette étape de « *flagging* » qui signifie le début de l'œstrus et coïncide plus ou moins avec le pic de LH.

### ***b.2.2 Modifications hormonales***

Les trois moments hormonaux clés lors de l'œstrus sont le pic de LH, la diminution de la concentration en E2 et l'augmentation de la concentration en P4.

C'est cette synergie qui déclenche l'acceptation de l'accouplement.

La progestérone augmente d'une concentration inférieure à 1,0 ng/mL à environ 2,0 ng/mL jusqu'à atteindre en moyenne 4,0 ng/mL au pic de LH. Par la suite, en l'absence de gestation, la concentration en progestérone augmente d'environ 3-10 ng/ml par jour. Cette augmentation est due au nombre de follicules, à leurs tailles, à l'ovulation, à la quantification du tissu lutéal et à la production intrinsèque de chaque corps jaune (Romagnoli et Lopate, 2017).

## ***b.3 Diœstrus***

### ***b.3.1 Définition, signes externes et modifications comportementales***

Le diœstrus ou metoœstrus est défini comme la phase lutéale ou progestative du cycle sexuel. Cette étape succède à la phase d'ovulation et dure précisément 8 semaines lors de gestation et environ 6-10 semaines lorsque la chienne n'est pas gestante (Romagnoli et Lopate, 2017). Lors de certains cas, cette phase peut dépasser les 10 semaines usuelles. Lors de cette période, la vulve devient moins œdématiée et souillée, mais peut encore présenter des saignements vulvaires notamment pendant la première semaine du diœstrus. Lors de cette phase, les mâles ne sont plus attirés. Le col de l'utérus est palpable dans des premiers jours tandis que l'utérus reste palpable et augmente de taille sous l'influence de la progestérone (Romagnoli et Lopate, 2017).

### ***b.3.2 Modifications hormonales***

Lors du dioœstrus, la concentration en P4 continue d'augmenter pour atteindre des valeurs entre 15-90 ng/ml (Bergström, 2017) deux à quatre semaines après l'initiation de la phase lutéale puis décroît progressivement.

L'étude de Hinderer et al. en 2021 s'est notamment intéressée aux variations de concentrations de la progestérone en dioœstrus chez les chiennes gestantes (n=98) et les chiennes non-gestantes (n=23).

Les concentrations en progestérone étaient évaluées durant trois temps : à T1 (11-19 jours post-ovulation), à T2 (23-32 jours post-ovulation) et à T3 (52-60 jours post-ovulation).

Ainsi, à T1 les concentrations en P4 étaient de  $30,20 \pm 6,65$  ng/ml et  $28,45 \pm 6,26$  ng/ml respectivement chez les chiennes gestantes et non gestantes. À T2, les concentrations de P4 étaient de  $22,73 \pm 6,27$  ng/ml et  $22,59 \pm 5,77$  ng/ml respectivement chez les chiennes gestantes et non gestantes. Enfin à T3, les concentrations en P4 étaient significativement différentes entre les chiennes gestantes et non gestantes :  $6,68 \pm 2,18$  ng/ml et  $3,17 \pm 2,26$  ng/ml (Hinderer *et al.*, 2021).

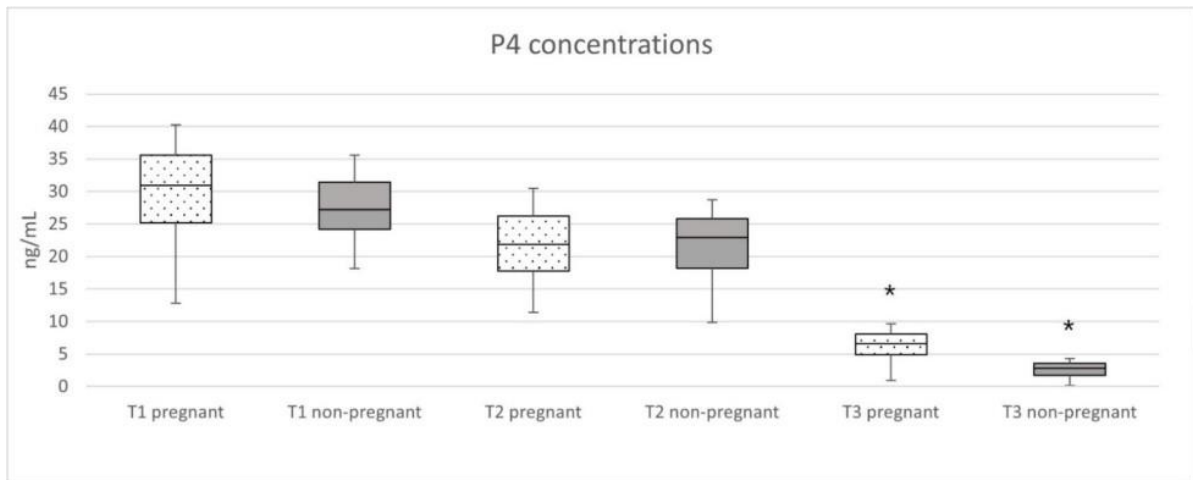


Figure 3 : Concentrations en progestérone chez les chiennes gestantes (n=98) et non gestantes (n=23) à trois temps : T1 (11-19 jours, post-ovulation), T2 (23-32 jours, post-ovulation), T3 (52-60 jours post-ovulation) (Hinderer *et al.*, 2021).

Ainsi, dans l'espèce canine, une chienne non gestante en diœstrus est sous imprégnation par la progestérone, de la même manière qu'une chienne gestante. Nous le verrons dans la partie sur la physiopathologie, mais c'est cette imprégnation en progestérone plus longue qui est à l'origine d'une augmentation de la prévalence de pyomètre au sein de l'espèce canine.

Pendant le diœstrus, le maintien des corps jaunes ainsi que la production de P4 sont assurés par l'hypophyse et notamment la prolactine (PRL) qui semble être le facteur le plus important dans le maintien des corps jaunes et ce uniquement en seconde partie de gestation (Bergström, 2017).

Par ailleurs, la production de prolactine s'effectue de manière pulsatile à partir de la première semaine jusqu'à la troisième semaine de la phase lutéale. La production de PRL augmente lors de la quatrième semaine lorsque la concentration en P4 diminue. Cette hormone a pour but de supporter la production en P4 ainsi que le développement du tissu mammaire indépendamment d'une gestation. Toutefois, on remarque que la concentration hormonale en prolactine est plus importante chez la chienne gestante que chez la chienne non gestante de même que pour la P4 (Bergström, 2017).

#### ***b.4. Anœstrus***

- ***b.4.1 Définition, signes externes et modifications comportementales***

Chez la chienne, les comportements lors du diœstrus ou de l'anœstrus ne diffèrent pas excepté potentiellement lors des premiers jours du diœstrus où certaines femelles attirent encore les mâles.

Comme lors de la phase de diœstrus, la vulve est de petite taille sans écoulements vulvaires. La paroi vaginale apparaît également plate, mince, sèche et ponctuée de tâches rouges. La durée

de l'anœstrus est très variable et dure de 2 à 9 mois. Cette variation dépend à la fois de l'individu et de la race.

Lors de l'anœstrus, l'utérus subit une involution nécessitant une desquamation de l'endomètre suivie de sa complète régénération.

- **b.4.2 Modifications hormonales**

L'anœstrus est défini comme la période pendant laquelle la concentration en P4 est inférieure à 1,0 ng/ml et correspond à une absence de tissu lutéal fonctionnel. La majorité des chiennes ont des concentrations en P4 inférieures à 0,7 ng/ml et sont en général comprises entre 0,3 et 0,5 ng/ml (Romagnoli et Lopate, 2017). Par ailleurs, une concentration en P4 inférieure à 0,3 ng/ml pourrait être une condition nécessaire pour déclencher la phase de proœstrus selon certains auteurs (Romagnoli et Lopate, 2017). Au fur et à mesure que l'anœstrus progresse, on observe une augmentation du nombre et de l'amplitude des pulses en GnRH. Une augmentation de la réponse hypophysaire et de la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines est également observée. Cette augmentation de la réponse hypophysaire est due à une augmentation des récepteurs en FSH et LH (Romagnoli et Lopate, 2017).

### **C. Modifications de l'endomètre au cours du cycle sexuel**

L'endomètre de la chienne non gestante subit deux transformations principales au cours du cycle sexuel : une phase de croissance et une phase de différenciation (Barrau *et al.*, 1975).

La phase de croissance débute à la fin de l'anœstrus avant que les signes cliniques de proœstrus ne soient évidents. Cette dernière est caractérisée par une hyperplasie glandulaire et une différenciation de larges cellules produisant du mucus au sein des glandes utérines. (Figure 4)

Dans l'espèce canine, cette période de croissance ne se produit pas pendant toute la phase folliculaire comme c'est le cas chez de nombreuses espèces. En effet, elle est plutôt caractérisée par un pic de croissance durant le début du proœstrus. Le reste de la croissance s'effectue lors des derniers jours du proœstrus et du début de l'œstrus. Cette phase de croissance a pour but de fournir un environnement adapté au transport des spermatozoïdes via la formation d'un compartiment rempli de mucus (Barrau *et al.*, 1975).

La seconde phase de croissance commence au milieu de l'œstrus et s'étale jusqu'à la première semaine du diœstrus. Cette étape est corrélée à la production de progestérone. Durant celle-ci, on observe une croissance des glandes utérines ainsi qu'une hypertrophie des cellules épithéliales qui se différencient (Figure 4) et montrent des signes d'absorption et de sécrétion (Barrau *et al.*, 1975).

Par la suite, en diœstrus, en l'absence de gestation, l'utérus entre dans une phase de régression qui implique une séquence de différenciation de l'épithélium utérin. Cette étape est initiée par une diminution de la concentration en P4. Cette phase est plus communément appelée « involution ». L'endomètre devient fin, les cryptes se raccourcissent, l'épithélium des glandes utérines devient simple et la zone intermédiaire est drastiquement réduite en hauteur (Figure 4). Le mécanisme cellulaire à l'origine de l'involution utérine est peu compris à ce jour (Barrau *et al.*, 1975).



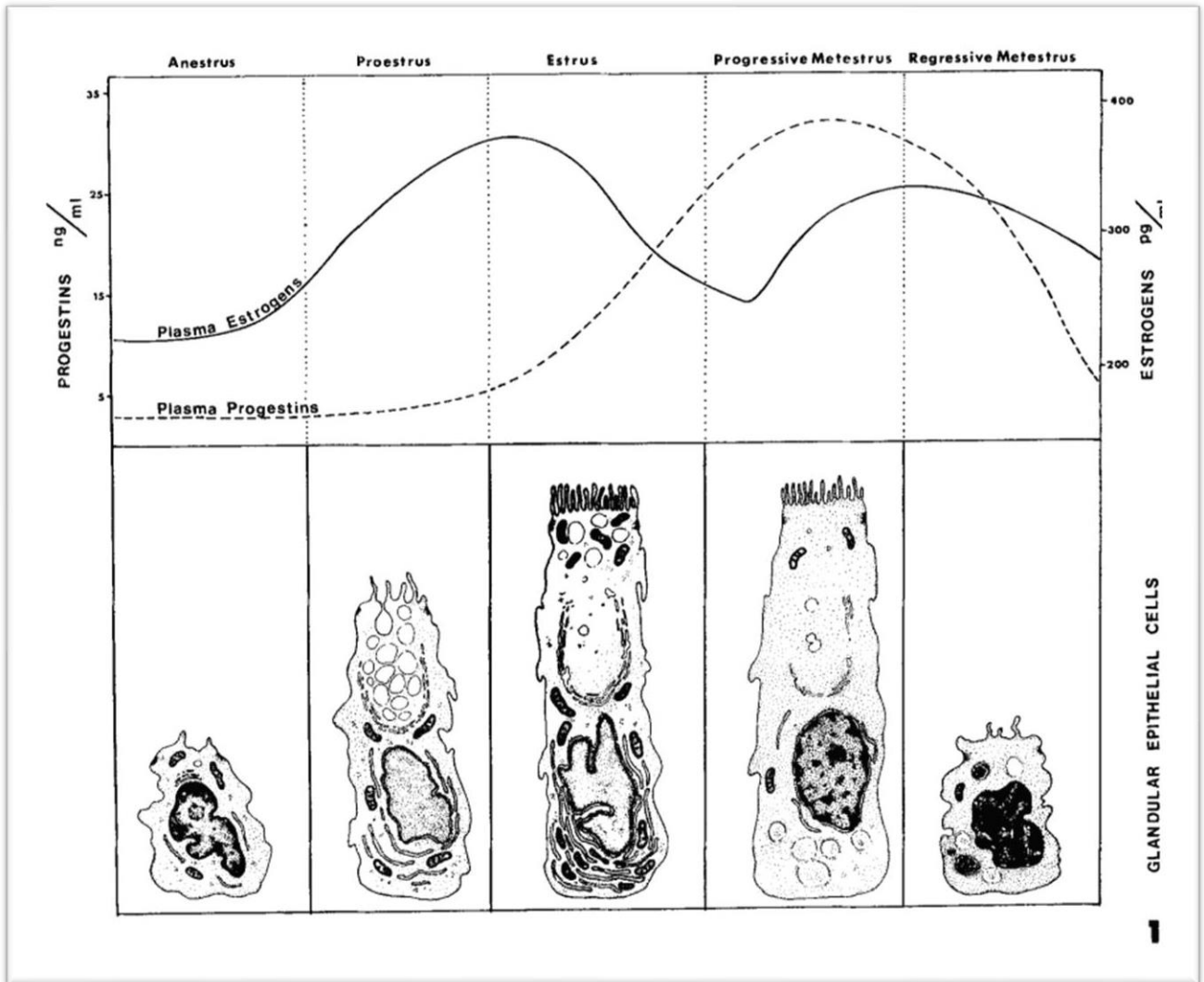


Figure 4 : Illustrations des modifications de l'épithélium glandulaire au cours du cycle sexuel (Barrau et al., 1975).

Nous avons ainsi vu dans cette première partie la conformation de l'utérus, ses modifications structurelles au cours du cycle sexuel en lien avec le cycle endocrinien. Plus particulièrement, chez la chienne non gestante, au cours du diœstrus, une imprégnation en progestérone a toujours lieu et ce sur un temps important (plus ou moins 6-10 semaines). Or la progestérone induit la croissance et la prolifération des glandes endométriales et leurs sécrétions, la fermeture du col, la suppression des contractions du myomètre ainsi qu'une baisse des défenses immunitaires. Ces mécanismes seront à l'origine de la forte prévalence du pyomètre au sein de l'espèce canine. Nous aborderons dans la partie suivante l'affection qu'est le pyomètre.

## 2. Le Pyomètre : synthèse bibliographique

### A. Étiologie

Le pyomètre signifiant " pus dans l'utérus" est une affection fréquente chez la chienne. Elle est caractérisée par une affection suppurée associée à un contenu exsudatif inflammatoire dans la lumière utérine de l'utérus la plupart du temps en dioestrus (1 à 3 mois après les chaleurs). (Blendinger et Bostedt, 1991). En effet, dans 61,3% des cas, la chienne est présentée en dioestrus associé à des signes génitaux et/ou généraux (Blendinger et Bostedt, 1991).

Toutefois, il existe des cas où la chienne présente un pyomètre alors qu'elle ne se situe pas en dioestrus. On estime que 9,4 % des chiennes sont présentées pour un pyomètre tandis que ces dernières sont en anœstrus, 6,3 % des chiennes sont en chaleurs, 12 % des chiennes sont présentées pour un pyomètre à la suite d'un traitement afin de supprimer les chaleurs, 3 % suite à un traitement abortif et 6,3% pour d'autres situations (non décrites dans l'étude) (Blendinger et Bostedt, 1991).

Il s'agit d'une maladie importante notamment dans les pays où la stérilisation n'est pas réalisée de manière courante.

En effet, en Suède, peu de chiennes sont stérilisées. Dès lors, approximativement 20 % des chiennes sont atteintes d'un pyomètre avant l'âge de 10 ans et chez certaines races ce chiffre peut monter jusqu'à 56 % (Jitpean *et al.*, 2012).

Communément l'affection atteint les chiennes d'âges moyen à élevés avec une moyenne d'âge d'environ 7 ans. Cependant, on peut également trouver cette affection chez des chiennes présentant des âges compris entre 4 mois et 18 ans.

L'incidence du pyomètre est de 199/10000 soit 0,02 % (Hagman, 2023).

### B. Signes cliniques

Parmi les signes cliniques les plus courants, on retrouve un écoulement vulvaire purulent ou sanguinolent pouvant être absent lorsque le col de l'utérus est fermé. Dans ce cas, l'utérus est sévèrement distendu et peut même rompre. On retrouve également des signes généraux tels que l'anorexie, l'abattement ou la léthargie, la polydipsie, la polyurie ou la tachycardie. Des signes tels que la fièvre, la déshydratation, les vomissements, les douleurs abdominales, l'anorexie et la diarrhée sont présents approximativement dans 15 % à 30 % des études. Il est également fréquent de retrouver des arythmies cardiaques induites par le sepsis (Hagman, 2023).

Les chiennes atteintes d'un pyomètre à col fermé sont le plus souvent léthargiques et peuvent parfois présenter une distension abdominale. Elles peuvent également présenter une septicémie, un syndrome inflammatoire à réponse systémique (corrélé à la durée des signes cliniques) ainsi qu'un état de choc vasogénique (Hagman, 2023).

Certaines chiennes présentent également une uvéite, des douleurs articulaires (dues un dépôt de complexes immuns) (Hagman, 2023).

Il est à noter que l'hyperthermie est rarement présente (33-50%) et que des chiennes hypothermes peuvent être rencontrées (3-10%) (Hagman, 2023).

L'ensemble des signes cliniques est présenté dans le tableau 1.

Signes cliniques et anamnestiques	% d'animaux atteints selon la littérature (Hagman, 2023)
Écoulement vulvaire	57-88
Léthargie/Dépression	63-100
Inappétence/Anorexie	42-87
Polydipsie	28-89
Polyurie	34-73
Vomissement	13-38
Diarrhée	0-27
Muqueuse anormale	16-76
Déshydratation	15-94
Palpation d'un utérus distendu	19-40
Abdomen aigu	23-80
Boiterie	16
Dilatation abdominale	5
Hyperthermie	32-50
Hypothermie	3-10
Tachycardie	23-28
Tachypnée	32-40
Syndrome inflammatoire à réponse systémique	57-61

Tableau 1 : Signes anamnestico-cliniques chez les chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2023). (N=621)

### C. Physiopathologie du pyomètre

La pathogénie de l'affection est complexe et pour l'instant, l'installation de l'affection n'est pas totalement comprise mais est probablement d'origine multifactorielle (Hagman, 2023). Toutefois, une prédisposition génétique semble se dégager et représentera une partie de cette thèse. Chez la chienne, la phase lutéale est relativement longue comparée aux autres espèces. Dès lors, l'endomètre est sous imprégnation de progestérone pendant une longue durée. La présence simultanée de corps jaunes et de kystes folliculaires est souvent observée chez les chiennes présentant un pyomètre, ce qui plaide en faveur d'un effet hormonal synergique.

La progestérone stimule la croissance et la prolifération des glandes endométriales et leurs sécrétions, la fermeture du col, la suppression des contractions du myomètre ainsi qu'une baisse des défenses immunitaires (inhibition leucocytaire). Cette inhibition leucocytaire est due à la production de médiateurs de l'inflammation par la P4. En médecine humaine, il a notamment été décrit que la P4 stimulait la production de T-cells à l'origine de cette baisse des défenses immunitaires (Cable et Grider, 2023).

Ces effets sont cumulatifs, ainsi chaque cycle aggrave le phénomène et favorise l'installation d'un milieu propice à la prolifération bactérienne. Dans le cadre d'une gestation, un renouvellement de l'endomètre permet de rééquilibrer les imprégnations hormonales.

La prolifération et la croissance pathologiques des glandes endométriales sont médiées par la progestérone et la formation de kystes endométriaux (HGK) prédisposerait au pyomètre, mais ces deux troubles peuvent se développer indépendamment (De Bosschere *et al.*, 2001).

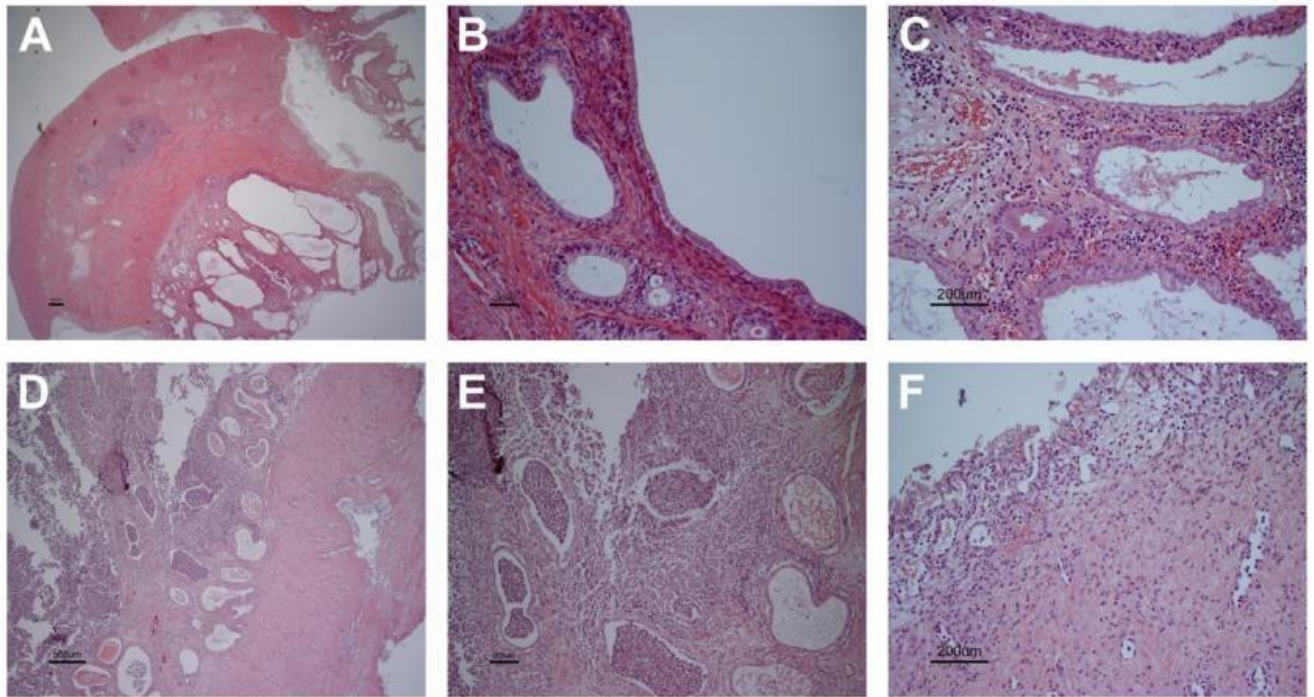


Figure 5 : Images des résultats histologiques au MET (grossissement inconnu) de l'examen des tissus utérins de chienne atteinte de CEH/pyomètre (Hagman, 2023).

(A) CEH ; (B) Agrandissement de (A) ; CEH-endométrite (C) ; Pyomètre (D) ; (E) Agrandissement de (D) ; Pyomètre-endomètre atrophique.

Par ailleurs, les chiennes saines ont une inhibition de la cascade de régulation des récepteurs aux œstrogènes à l'origine d'une diminution des récepteurs en E2 sous l'effet d'une augmentation de la progestéronémie (Derussi *et al.*, 2012). Ce mécanisme semblerait être absent chez les chiennes atteintes d'hyperplasie glandulokystique et/ou de pyomètre. Ainsi, l'endomètre serait réceptif à de très faibles taux d'œstrogènes, ce qui induirait une prolifération endométriale en continu (De Bosschere *et al.*, 2001).

Comme nous avons pu le citer précédemment, la pathogénie du pyomètre repose principalement sur des modifications hormonales à l'origine d'un environnement propice aux bactéries.

*Escherichia Coli* est le pathogène le plus fréquemment isolé lors de pyomètre : entre 65 à 90 % selon les études (Hagman, 2023). D'autres bactéries peuvent être également retrouvées et la plupart du temps (tableau 2), l'affection est due à la concomitance de plusieurs germes. Cette possible concomitance permet une synergie entre les bactéries.

Tableau 2 : Bactéries isolées dans l'utérus de chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2023).  
(N=603 cas)

Organisme	Proportion au sein des chiennes atteintes de pyomètre
<i>Escherichia Coli</i>	65-90 %
<i>Staphylococcus spp</i>	2-15 %
<i>Streptococcus spp</i>	4-23 %
<i>Pseudomonas spp</i>	1-8 %
<i>Proteus spp</i>	1-4 %
<i>Nocardia spp</i>	1 %
<i>Pasteurella spp</i>	1-2 %
<i>Klebsiella spp</i>	2-14 %
Mixte	4-16 %
Sans résultats obtenus après culture	10-26 %
<i>Mycoplasma spp, Enterococcus spp</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Corynebacterium spp, Citrobacter spp</i> <i>Moraxella spp, Edwardsiella spp etc...</i>	< 1 %

En temps normal, un utérus sain élimine les bactéries qui sont entrées par l'ouverture du col utérin. Toutefois, cette clairance varie en fonction du cycle œstral et notamment de la concentration en E2. Il a été démontré expérimentalement par Tsumagari et al. en 2005 qu'une administration intra-utérine d'une culture d'*Escherichia Coli* lors de la phase lutéale conduit le plus souvent à un pyomètre. Cette expérience a été réalisée chez des chiennes âgées entre 1 et 7 ans et une quantité unique d'*Escherichia Coli* était administrée par voie intra-utérine à chaque chienne ( $5 \times 10^7$  CFU).

En effet, selon la Figure 6 on remarque qu'en diœstrus, lorsque la concentration en progestérone commence à atteindre son pic de concentration (soit environ 11-20 jours après le pic de LH), l'inoculation intra-utérine de bactéries et plus particulièrement d'*Escherichia Coli* induit dans 90 % des cas un pyomètre.

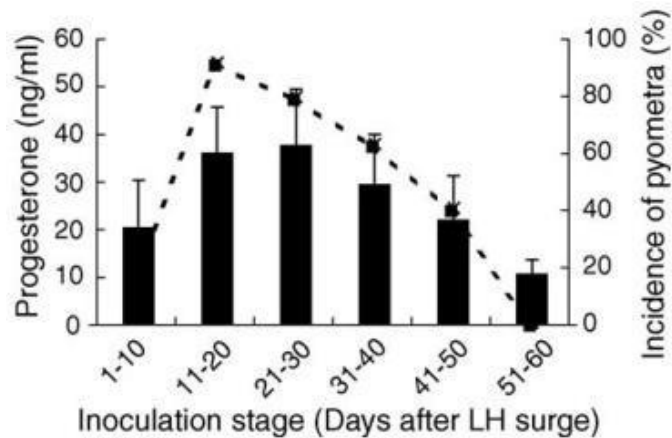


Figure 6 : Incidence du pyomètre chez la chienne après inoculation induite d'*E. Coli* au sein de l'utérus à différents moments après le pic de LH et ainsi à différentes concentrations en progestérone (Tsumagari et al., 2005).

L'infection est très probablement ascendante car les mêmes souches sont présentes dans le flore vaginale qui est le reflet de la flore intestinale. Une propagation hématogène pourrait également se produire.

*Escherichia Coli* de la flore vaginale possède une prédisposition accrue à adhérer à des récepteurs spécifiques dans un endomètre stimulé par la progestérone.

La glycosylation de l'endomètre peut également faciliter l'attachement bactérien. Certains sérotypes d'*Escherichia Coli* sont plus fréquents et présentent souvent la même virulence que les isolats provenant d'infections des voies urinaires (Hagman, 2023).

Par ailleurs, les bactéries et les produits issus des bactéries sont des potentiels inducteurs d'une réaction locale ou systémique de l'inflammation. Ainsi les endotoxines, les lipopolysaccharides des bactéries Gram négatifs tels qu'*Escherichia Coli* relargués dans la circulation lors de la destruction des bactéries vont provoquer des symptômes tels que la fièvre, la léthargie, la tachycardie et la tachypnée (Hagman, 2023).

Également, une concentration plus importante en endotoxines peut provoquer un choc septique associé à une défaillance de plusieurs organes (MODS) et possiblement une coagulation intravasculaire disséminée. On estime que 60% des chiennes sont atteintes d'un sepsis (Hagman, 2023).

#### **D. Modifications de la cascade de régulation de certains gènes lors de pyomètre**

Une seule étude s'est intéressée aux modifications de la transcription de certains gènes lors d'un pyomètre. Il s'agit de l'étude de Silva et al. parue en 2010.

Le but de cette étude était de comparer la transcription de gènes codant pour différents récepteurs Toll like (*TLR2*, *TLR4*) ainsi que pour des ligands au LPS d'*Escherichia Coli* (CD14, MD-2, LBP).

L'étude comparait également la régulation des gènes intervenant dans la synthèse de prostaglandines (*COX1*, *COX2*, *PGES1*, *PFGS*) chez les chiennes atteintes de pyomètre et chez des chiennes saines.

Cette étude a permis de montrer qu'à l'exception du Gène *COX1*, l'ensemble des gènes présentaient une augmentation de leur transcription (Silva et al., 2010).

En effet, la transcription du gène *COX2* était 19 fois plus importante chez les chiennes atteintes de pyomètre que chez les chiennes saines en diœstrus.

Concernant les gènes *PFGS* et *PGES*, la transcription était respectivement 2,9 fois et 11,3 fois plus importante chez les chiennes atteintes de pyomètre que chez les chiennes saines (Silva et al., 2010).

Pour les gènes codant pour les Toll-Like récepteurs (*TLR2*- *TLR4*), leurs transcriptions étaient également augmentées (de 2,4 à 6 fois plus). De même pour les gènes codant pour des ligands du LPS d'*EscherichiaColi* (Silva et al., 2010).

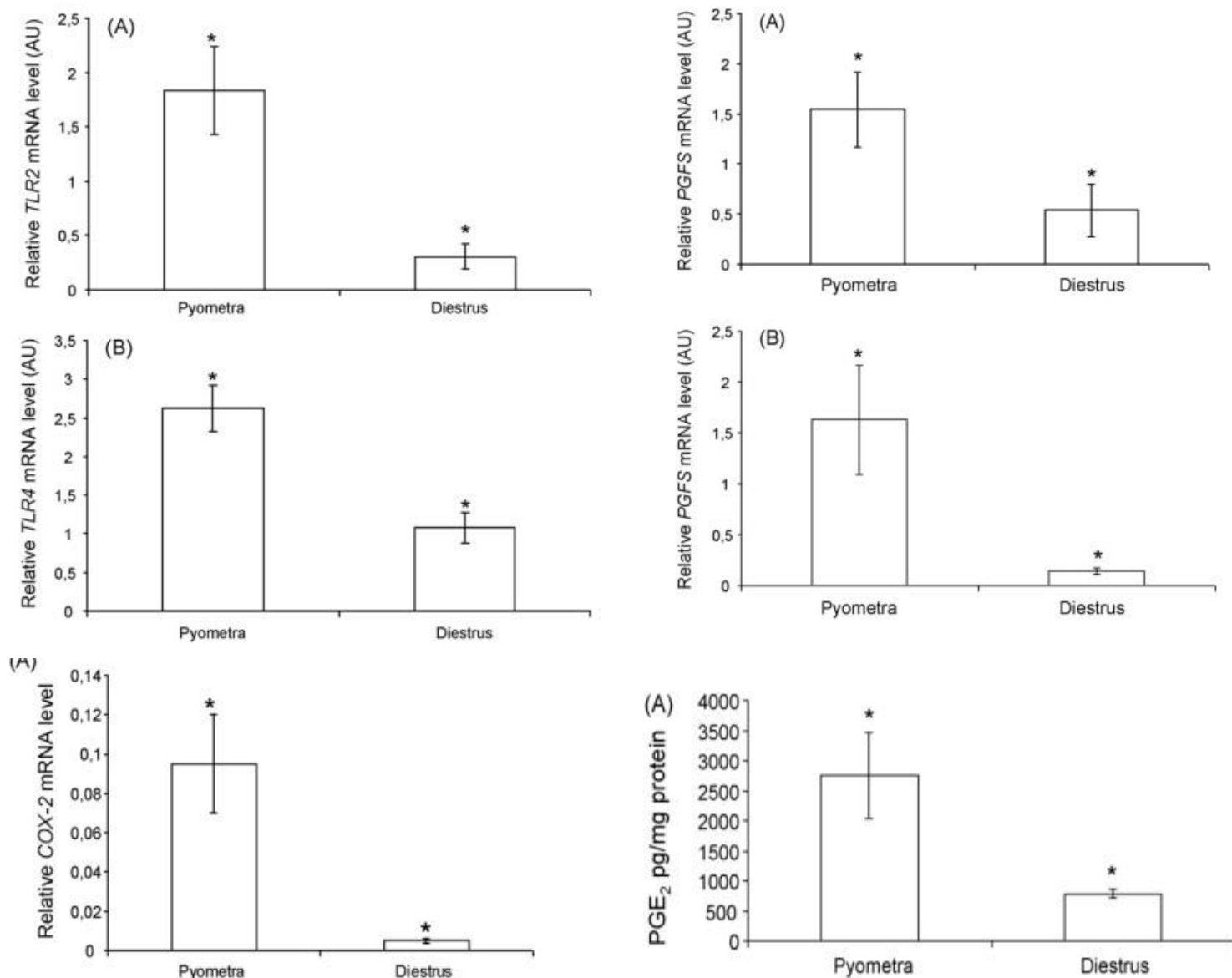


Figure 7 : Quantification de la transcription des gènes (*TLR4*, *TLR2*, *PGE2*, *PGFS*, *COX2*) chez des chiennes saines et des chiennes atteintes de pyomètre (Silva et al., 2010).

Par ailleurs, il est également à noter que la concentration endométriale en prostaglandine (*PGE2*) était également plus importante chez les chiennes atteintes de pyomètre ( $2746 \pm 712$  pg/mg par protéine contre  $775 \pm 71$  pg/mg par protéine) que chez les chiennes saines. (Silva *et al.*, 2010)

Or, comme nous avons pu le voir, les gènes *TLR2* et *TLR4* interviennent dans la réponse à une infection par des bactéries à gram négatif. On peut dès lors supposer que l'augmentation de leur transcription s'effectue par une réponse à l'infection par *Escherichia Coli* et reflète une infiltration importante en leucocytes et notamment en neutrophiles dans l'endomètre utérin en réponse à l'infection. De même pour les ligands au LPS d'*Escherichia Coli* puisque dans la majorité de cas (80%) le pyomètre est associé à une infection à *Escherichia Coli* (Silva *et al.*, 2010).

Concernant, l'augmentation en *PGE2* mesurée dans l'endomètre utérin, celle-ci résulte principalement d'une activation de la transcription des gènes *COX2* et *PGES* après une stimulation



par les endotoxines (démonstré par Helliwell et al. en 2004 sans qu'un réel lien n'ait été établi entre les deux) (Silva *et al.*, 2010).

Or, l'augmentation de la concentration en prostaglandines (PGE2) pourrait aggraver la baisse de l'immunité durant le diœstrus.

Ainsi, lors d'affection du pyomètre, certains gènes ont une transcription augmentée en réponse à l'endotoxémie mais peuvent également contribuer à l'aggravation de l'affection.

## **E. Diagnostiquer un pyomètre**

### ***e.1 Critères épidémio-cliniques***

L'affection est assez simple à reconnaître dans les cas classiques, mais peut s'avérer être plus compliquée lorsque le pyomètre à col fermé et/ou lorsque le bilan anamnestic-clinique est fruste (Hagman, 2023).

Ainsi lors d'affection de pyomètre « à col fermé », le diagnostic se basera dans un premier temps sur des critères épidémio-cliniques tels que le stade du cycle sexuel, l'examen clinique par la présence d'un abdomen aigu et sera souvent associé à des examens complémentaires.

Le pyomètre doit être intégré dans le diagnostic différentiel sur l'ensemble des chiennes présentées en diœstrus et ayant des écoulements vulvaires. Parmi les affections du diagnostic différentiel, on retiendra : une vaginite, une métrite post-partum, un mucomètre, des chaleurs, une hyperplasie glandulokystique ainsi qu'une tumeur de l'appareil génital (Hagman, 2022).

Le diagnostic s'établit d'une part sur l'historique des signes cliniques et l'examen clinique, notamment de l'appareil reproducteur. Les signes cliniques ont été présentés dans la partie 1.2.b.

Toutefois, le bilan-anamnestic clinique ne permet pas de différencier deux entités qui sont l'hyperplasie glandulokystique-mucométrique et le pyomètre (De Bosschere *et al.*, 2001). Ces deux entités peuvent parfois se distinguer par un examen d'imagerie médicale, par une approche macroscopique c'est-à-dire par visualisation de l'utérus après ovario-hystérectomie et également par l'appréciation de différences hématologiques et biochimiques (hémogramme, CRP).

### ***e.2 Modifications hématologiques et biochimiques***

Pour la majorité des chiennes présentées pour une suspicion de pyomètre, un bilan hématobiochimique est réalisé. Ce dernier permet d'orienter le diagnostic mais également d'identifier de possibles comorbidités.

Ainsi, dans 61 % des cas, on retrouvera une leucocytose neutrophilique associée à un virage à gauche (left shift) caractéristique d'une inflammation active ainsi qu'une monocytose (83 %) (Hagman, 2023).

Par ailleurs, dans les cas de sepsis, on retrouve souvent une lymphopénie provoquée par une inhibition de la prolifération lymphocytaire. Toutefois, malgré la sévérité que représente un sepsis, la lymphopénie ne représente que 4 % des cas de pyomètre (tableau 3). (Hagman, 2023)

Le plus souvent, on retrouve également une anémie normocytaire normochrome régénérative par perte sanguine (55 % des cas) (Hagman, 2023).

On observe également une dysfonction rénale dont les origines sont multiples (5 % des cas) (Hagman, 2023).

Cette dysfonction rénale peut-être :

- ✓ D'origine pré-rénale : par hypovolémie liée aux pertes, la déshydratation et/ou liée à une diminution de la réponse à l'ADH (hormone anti-diurétique) par fixation des LPS d'*Escherichia Coli* sur ses récepteurs.
- ✓ D'origine rénale : par endotoxémie ou par dépôt de complexes immuns provoquant ainsi une glomérulopathie.
- ✓ D'origine post rénale : cette origine est la moins fréquente. Toutefois, en cas de dilatation sévère de l'utérus, une obstruction partielle des voies urinaires basses peut être retrouvée.

Des signes d'infection du tractus urinaire sont également retrouvés dans certains cas tels qu'une bactériurie ou une modification du pH urinaire.

On note également la présence de désordres électrolytiques tels qu'une hypernatrémie (33 %), une hypochlorémie (35 %), une hypokaliémie (3 %) ainsi qu'une hyperlactatémie (10 %).

Enfin, une augmentation des médiateurs de l'inflammation et des protéines de l'inflammation (CRP) sont dans la majorité des cas observés (Hagman, 2022).

Une étude menée par Enginler et al. en 2014 visait à comparer la quantité en protéine C-réactive (Enginler *et al.*, 2014) entre les chiennes atteintes d'un pyomètre, les chiennes atteintes d'une hyperplasie glandulokystique et les chiennes saines. Cette dernière a montré que la protéine C-réactive était majoritairement augmentée chez les chiennes atteintes de pyomètre ( $149 \pm 25,38 \mu\text{g/ml}$ ) par rapport aux chiennes atteintes d'hyperplasie glandulokystique mucométrique ( $31,31 \pm 11,43 \mu\text{g/ml}$ ) ou de chiennes saines ( $14,48 \pm 4,93 \mu\text{g/ml}$ ).

Dans certaines situations, un état hypercoagulable est présent. Il est dû à la réponse inflammatoire systémique et à l'augmentation de la concentration en progestérone dans le sang (Dorsey *et al.*, 2018). En effet, l'inflammation systémique a été montrée pour avoir un effet pro-coagulant sur l'hémostase primaire et secondaire. Plus particulièrement, le relargage des cytokines de l'inflammation résulte en l'augmentation de la libération des plaquettes qui sont, dès lors, plus susceptibles d'être activées (Dorsey *et al.*, 2018).

Comme vu dans les paragraphes précédents, il est parfois difficile de différencier le pyomètre de l'HGK sur la base des signes cliniques. D'un point de vue paraclinique, il est possible de différencier ces deux entités notamment par la mesure des protéines C-réactives et également par la réalisation d'un hémogramme qui démontre une leucose neutrophilique la plupart du temps importante lors de pyomètre contrairement à l'HGK.

Une étude de Hagman et al. en 2006 a permis de montrer qu'il était possible de différencier ces deux affections en mesurant la concentration en PG-métabolite reflétant l'activité de la prostaglandine (PGF $2\alpha$ ) (Hagman *et al.*, 2006). Toutefois, cette mesure n'est pas réalisée au centre hospitalier vétérinaire de l'ENVA et ne sera donc pas détaillée dans la partie expérimentale suivante.

Tableau 3 : Modifications hématologiques, biochimiques, urinaires chez les chiennes atteintes de pyomètre (Hagman, 2022). (N=467)

Anomalies aux examens biochimiques, hématologiques et urinaires.	Pourcentage de chiennes atteintes de pyomètre présentant ces anomalies
Leucopénie	4
Leucocytose	61
Neutropénie	4
Neutrophilie	55
Monocytopénie	3
Monocytose	60
Anémie	55
Virage à gauche avec neutrophilie	83
Thrombocytopénie	37
Augmentation des ALAT	22
Hypoalbumémie	33
Baisse des PAL	49
Augmentation des PAL	37
Augmentation des ASAT	64
Augmentation de la cholestérolémie	74
Hypernatrémie	29
Hypochlorémie	33
Azotémie	5
Hypourémie	10
Hyperurémie	5
Augmentation des acides biliaires	21
Hypoglycémie	6
Hyperglycémie	4
Hypokaliémie	4
Hyperlactatémie	10
Augmentation des enzymes urinaires	42
Bactériurie	25

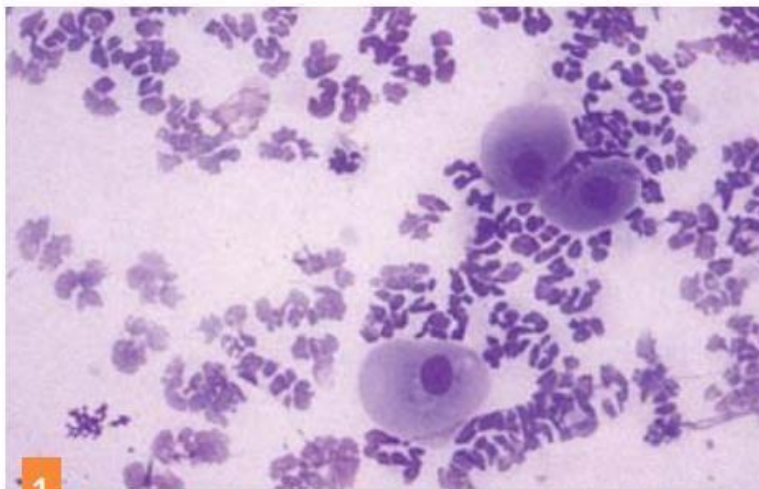
Enfin, afin de caractériser au mieux l'affection, le clinicien a souvent recours à un examen d'imagerie que ce soit la radiographie ou l'échographie abdominale.

### ***e.3 La cytologie vaginale***

Parmi les affections incluses dans le diagnostic différentiel d'écoulement vulvaire en diœstrus, on retrouvera des causes hormonales, des causes infectieuses (pyomètres) et des causes néoplasiques (tumeurs génitales).

Ainsi, la réalisation d'un frottis vaginal peut apporter des informations.

Lorsqu'elle est réalisée, cette dernière met en évidence dans le cadre de pyomètre, une inflammation neutrophilique sévère, des macrophages, des plasmocytes et dans certains cas des images de phagocytoses sont observées. Aucune étude ne s'est intéressée à une différence au niveau de la cytologie entre le pyomètre à col fermé et à col ouvert. Toutefois, on peut supposer que même dans le cadre d'un pyomètre à col fermé, une inflammation diffuse de l'organe à lieu s'observant également par une inflammation d'origine neutrophilique.



**1** Frottis vaginal montrant une nombreuse population de neutrophiles degenerés (photo CERCA).

Figure 8 : Cytologie vaginale d'une chienne atteinte d'un pyomètre (Mir and Fontaine, 2009).

L'utilisation d'une vaginoscopie peut s'avérer très utile pour déterminer l'origine des écoulements vulvaires et d'exclure d'autres affections. Cependant, elle est très peu utilisée (Hagman, 2023).

### ***e.4 Les examens d'imagerie***

#### ***e.4.1 L'échographie abdominale***

De nos jours, l'échographie abdominale est de plus en plus abordable en clinique vétérinaire. Même si elle demande une technicité plus importante que la radiographie abdominale, sa prise en main est rapide. Elle présente une meilleure sensibilité et spécificité que la radiographie et permet d'orienter fortement en faveur d'un pyomètre.

L'échographie abdominale va permettre d'apprécier la dilatation utérine et d'exclure certaines causes de dilatation utérine autre que le pyomètre (Hagman, 2022).

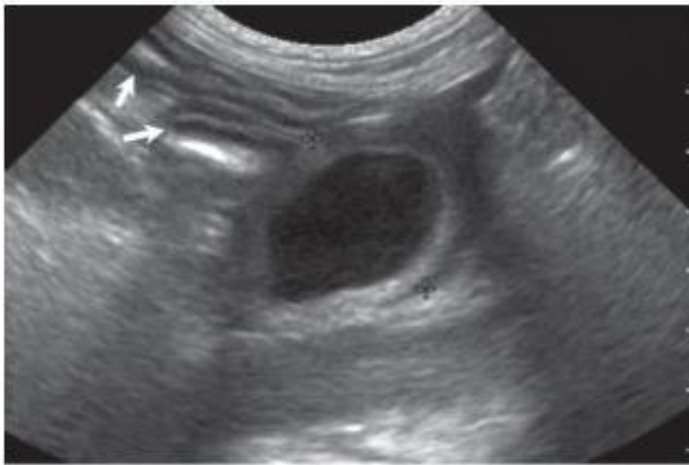


Figure 9 : Image échographique d'un pyomètre chez une chienne Whippet de 11ans (Pollard et Hecht, 2015).

Les flèches blanches indiquent les intestins. On observe une zone de dilatation anéchogène focale. Il s'agit de la corne utérine

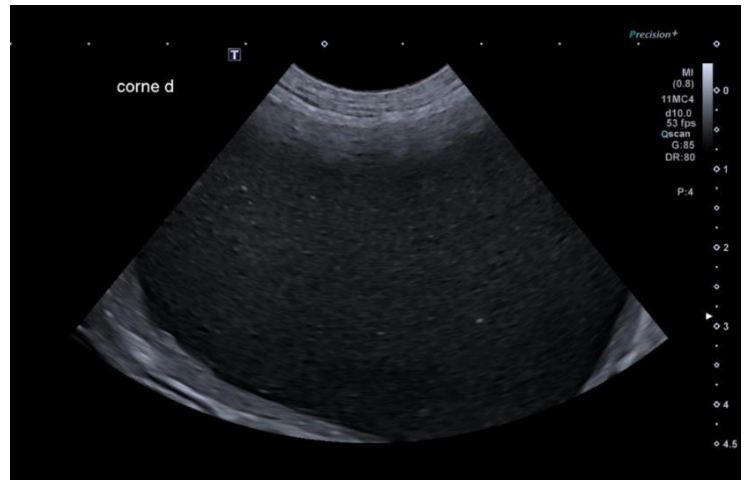


Figure 10 : Échographie d'une chienne atteinte d'un pyomètre.

Les deux structures anéchogènes cavitaires représentent l'utérus (Source : Service d'imagerie, CHUV-AC).

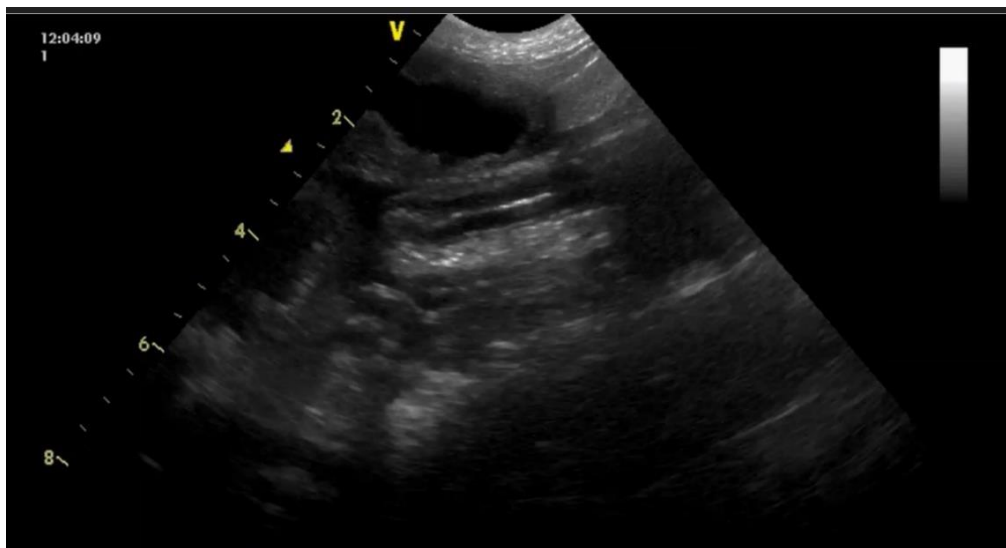


Figure 11 : Image échographique de pyomètre (Hagman, 2023).

On observe une zone de dilatation focale anéchogène en position ventrale. Il s'agit de la corne utérine remplie de liquide.

Par le biais de l'échographie, pourra être mis en évidence un contenu liquidien anéchogène ou hypoéchogène hétérogène associé à une dilatation utérine. Elle pourra également révéler d'autres affections de l'utérus ou de l'ovaire (kyste ovarien, hyperplasie glandulokystique) (Bigliardi *et al.*, 2004).

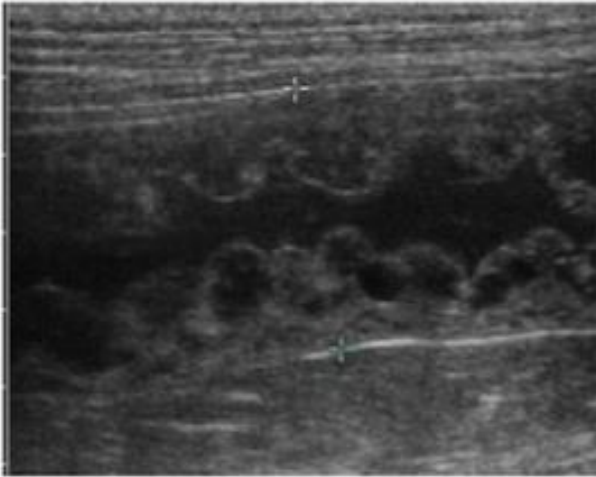


Figure 12 : Image échographique d'une hyperplasie glandulokystique (Hagman, 2023).

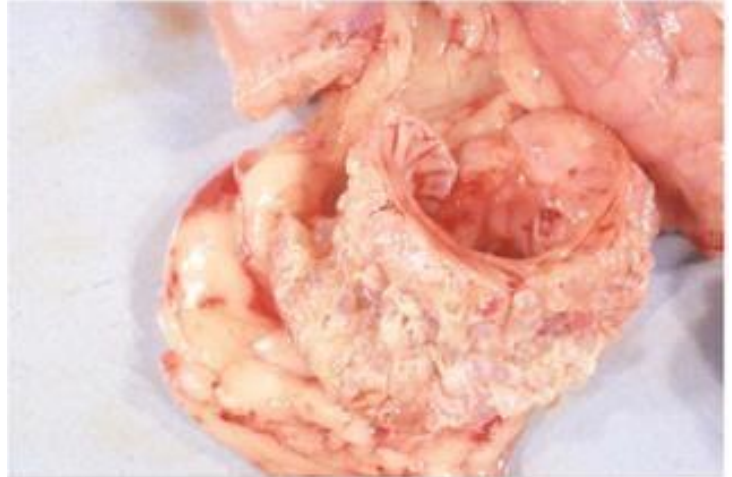


Figure 13 : Image macroscopique d'une hyperplasie glandulokystique (Hagman, 2023).

Cependant, l'échographie abdominale ne permet pas forcément de différencier d'autres affections utérines telles que le mucomètre, l'hydromètre ou la métrorragie (Hagman, 2022).

En effet, le diagnostic de certitude passe avant tout par l'aspect macroscopique de l'utérus après l'exérèse chirurgicale ou par un examen anatomo-histopathologique.

#### ***e.4.2 La radiographie abdominale***

En clinique vétérinaire généraliste, la radiographie est un examen d'imagerie souvent réalisé dans le diagnostic du pyomètre car cette dernière est peu onéreuse et ne demande pas de grande technicité. De nos jours, l'échographie est l'examen prioritaire à réaliser.

Une radiographie abdominale comprenant deux incidences (face/profil) peut être proposée, mais sera moins spécifique et sensible qu'une échographie abdominale.

Ainsi, à la radiographie, il est possible d'identifier une large structure tubulaire dans l'espace abdominal caudal correspondant à l'utérus dilaté par un contenu liquidien (Figure 14). En temps normal, l'appareil génital femelle n'est pas visible à la radiographie abdominale. Par ailleurs, il est également possible d'observer un effet de masse à la radiographie correspondant au déplacement des structures dans l'abdomen caudal dû à la sévère dilatation de l'appareil génital femelle. Il est possible de confondre entre un utérus en début de gestation à la radiographie et un pyomètre.

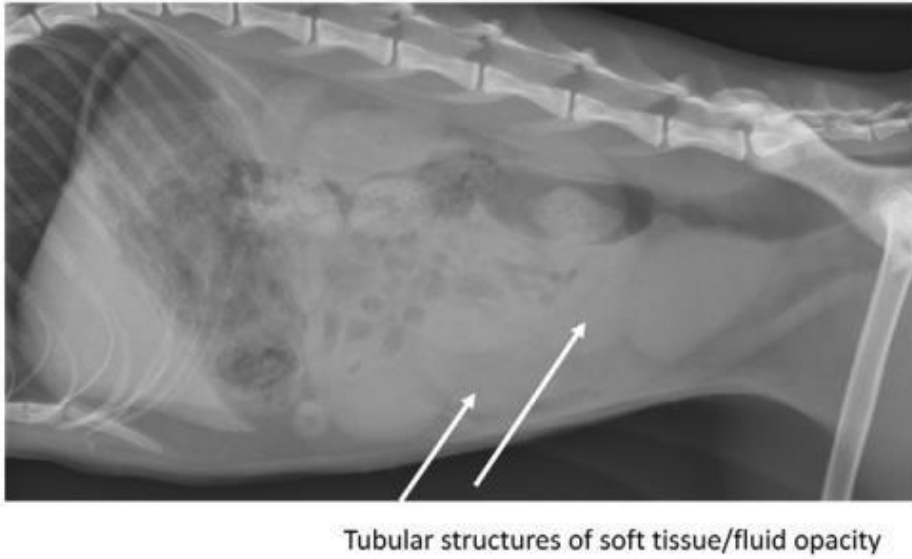


Figure 14 : Radiographies abdominales d'une chienne atteinte d'un pyomètre (Hagman, 2022).

À gauche, la vue de profil et à droite la vue de face. Les flèches blanches délimitent les structures tubulaires d'opacité tissulaire de l'utérus.

## F. Le traitement du pyomètre : chirurgical et médical

Nous traiterons brièvement cette partie dans notre thèse puisque le traitement du pyomètre est un axe incontournable dans l'affection. Toutefois, cette partie a déjà fait l'étude d'une thèse en 2009 nommée : « Le pyomètre chez la chienne : une urgence chirurgicale ou médicale ? » (Bourgois, 2009). Dès lors, nous évoquerons les nouveaux protocoles en vigueur concernant le traitement médical puisque la thèse d'Agnès Bourgois a été réalisée en 2009. Nous ne détaillerons pas l'action précise des différentes molécules constituant le traitement médical.

Dès lors, nous évoquerons les grandes lignes, l'ensemble des informations se situant dans la thèse précédemment citée.

Une partie de cette thèse visait à établir un arbre décisionnel afin de déterminer le choix de traitement le plus optimal. Cet arbre décisionnel est présenté ci-dessous.

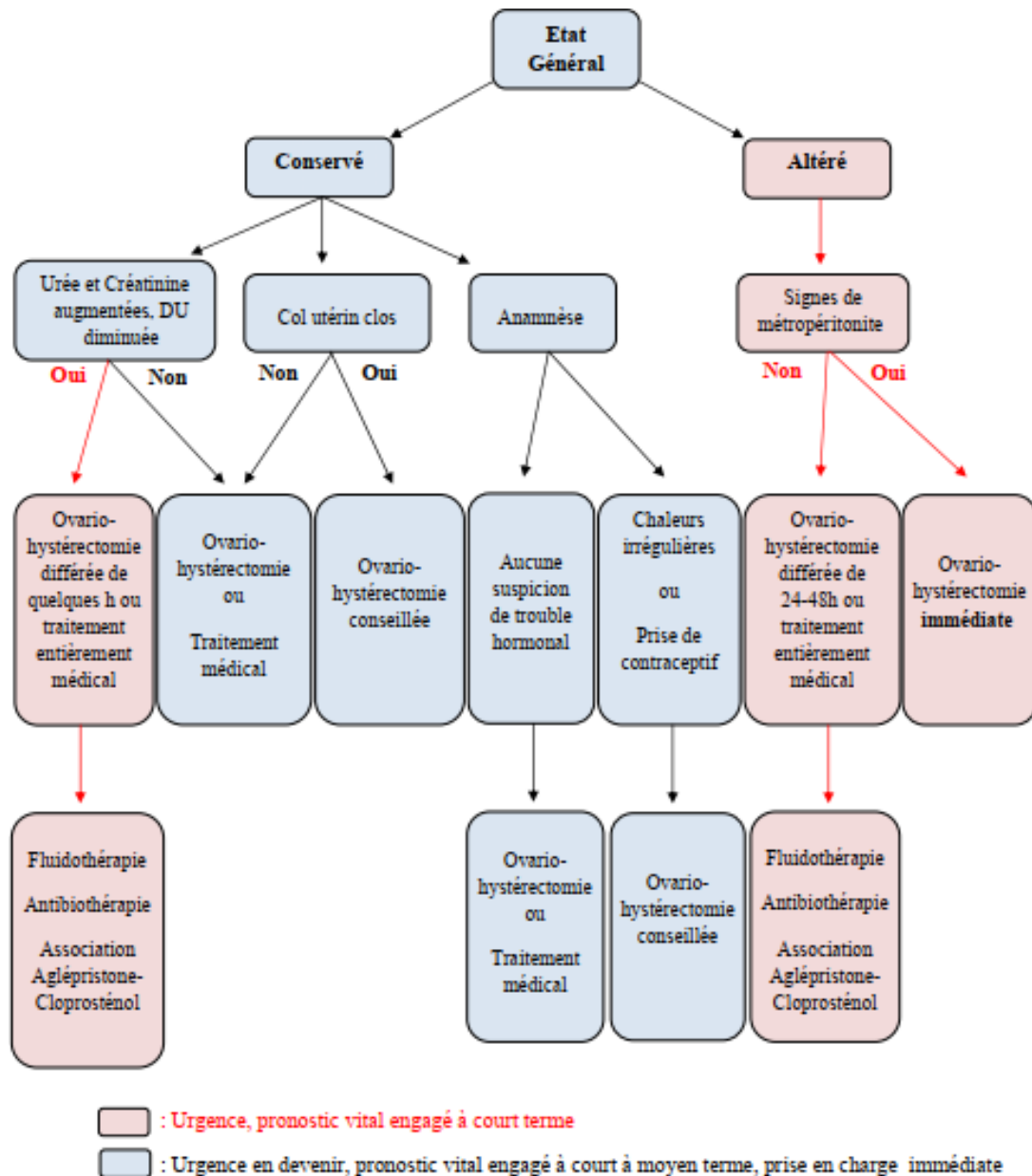


Figure 15 : Arbre décisionnel de la prise en charge d'un pyomètre (Bourgeois,2009).

Dans le cadre où un animal présente un état général dégradé, la prise en charge chirurgicale est conseillée après stabilisation de l'état général.

Dans le cas où l'animal présente un bon état général, les critères orientant entre le traitement chirurgical et médical sont principalement d'ordre paramédicaux et anamnestiques. En effet, une chienne présentant une insuffisance rénale sera plus amenée à être dirigée vers un traitement chirurgical. De même pour une chienne présentant des chaleurs irrégulières ou ayant reçu un contraceptif. Dans le cadre d'un pyomètre à col fermé, la prise en charge chirurgicale est souvent indiquée puisque dans ce type de pyomètre les chiennes peuvent très vite se dégrader et/ou présenter un état de choc vasogénique.



Concernant les autres situations, un traitement médical peut être envisagé.

### **f.1. Le traitement chirurgical : l'ovario-hystérectomie**

Avant toute chose, le patient est stabilisé à l'aide d'une fluidothérapie afin de corriger les désordres électrolytiques ainsi qu'acido-basiques, l'hypotension possiblement sous-jacente et l'état de choc.

Lorsque l'état de l'animal est stable, l'ovario-hystérectomie (OVH) est recommandée pour un traitement curatif et l'utilisation d'antibiotiques n'est pas nécessaire en préopératoire. En effet, selon (Lavin et Maki, 2023) chez les 45 % des 776 chiennes n'ayant pas reçu d'antibiothérapie en phase préopératoire, aucune d'entre elles n'était associée à un décès ou de sévères complications.

Le retrait de l'organe remplis de pus est la clé du traitement et la chirurgie d'OVH ne devrait pas être retardée sous risque d'endotoxémie important et de sepsis/choc septique.

Concernant l'anesthésie et la stabilisation peropératoire, celles-ci devront être axées sur la gestion de la douleur, afin de lutter contre une potentielle hypoxémie et de protéger les fonctions hémodynamiques ainsi que la tension (Hagman, 2023).

Concernant la chirurgie en elle-même, il s'agit d'une OVH "classique" avec quelques modifications. L'ensemble des étapes a été détaillé dans la thèse d'Agnès Bourgeois (2009).

L'utérus étant dilaté par un contenu, friable et possiblement sur le point de rompre, celui-ci devra être manipulé avec précaution. La cavité abdominale devra être protégée d'une possible contamination. Les vaisseaux du ligament large sont ligaturés et le contenu purulent est séparé du col utérin. Ensuite, l'ensemble de la chirurgie suit la procédure classique d'OVH.

Il est également possible de rincer la cavité abdominale avec du sérum physiologique (plusieurs litres) stérile légèrement tiédi en cas de possible contamination de cette cavité abdominale.

Concernant les complications propres à l'ovario-hystérectomie, dans de rares cas, le moignon utérin peut s'infecter et provoquer des signes cliniques similaires à celui d'un pyomètre (écoulement purulent vulvaire, polyuro-polydipsie, abattement, vomissement...) (Hagman, 2023).

### **f.2 Le traitement médical**

Comme évoqué par Agnès Bourgeois dans sa thèse, certains patients peuvent être amenés à recevoir un traitement médical. Parmi ces types de patients, on retrouvera les animaux présentant un état général conservé sans complication (notamment rénale) et sans trouble hormonal ainsi que les animaux présentant un état altéré sans signes de métropéritonite (Bourgeois, 2009).

Il existe de nombreuses contre-indications à l'utilisation du traitement médical, parmi lesquelles on compte les affections systémiques, une hyperthermie ou une hypothermie, des défaillances d'organes, des complications telles que la péritonite ou le sepsis.

Dans le cas d'un traitement médical, les signes cliniques (la réduction et/ou l'élimination des pertes vulvaires), la taille de l'utérus et les modifications hématologiques et biochimiques (azotémie marquée, leucocytose neutrophilique par exemple) se normalisent en une à trois semaines.

Il est également à noter que l'utilisation d'antibiotiques seuls pour le traitement du pyomètre peut réduire l'affection et diminuer sa progression mais ne constitue pas un traitement curatif (Hagman, 2023). Par ailleurs, en cas d'absence d'amélioration ou de dégradation de l'état général, un traitement chirurgical peut être envisagé.

Le but du traitement médical constitue à diminuer les effets de la progestérone en empêchant sa production et/ou son action, à favoriser l'élimination du liquide utérin ainsi qu'à relâcher le col utérin.

Parmi les médicaments, on retrouve la prostaglandine F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ , c'est-à-dire le dinoprost trométhamine) ou d'analogue de synthèse : le cloprosténol. Les agonistes de la dopamine (cabergoline et bromocriptine) ainsi que les bloqueurs de récepteurs de la progestérone (aglépristone) font également partie des traitements utilisables (Hagman, 2023).

Un traitement antibiotique et de soutien (fluidothérapie, correction des désordres électrolytiques) peut y être associé.

L'ensemble des protocoles décrits dans la littérature sont présentés dans les figures 17 et 18. L'ensemble des molécules et des effets secondaires sont décrits dans la thèse d'Agnès Bourgeois. N'étant pas discutées dans l'étude expérimentale et rétrospective, nous ne les détaillerons pas dans cette thèse.

Figure 16 : Protocole de traitement médical pour un pyomètre (1<sup>ère</sup> partie)  
(Hagman, 2023).

Drug	N	Protocol and Dosage	Outcome and Side Effects	Reference
Aglepristone	24	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on day 2, 7, and 14	Recovery in 100%; recurrence after up to 54 mo 12%; fertility in 12% of 17 bitches mated	Jurka et al, <sup>110</sup> 2010
Aglepristone	28	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, 7, 15, and 23, 29 if not cured	Recovery in 75% (resolution of clinical signs); recurrence: 48% after up to 6 y; fertility in 69% of 13 mated bitches	Ros et al, <sup>111</sup> 2014
Aglepristone	52	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, and 7	Recovery in 92%; recurrence: 10% after 3 mo, 19% in 37 bitches followed-up to 1 y; fertility in 83% (5/6 mated bitches)	Trasch et al, <sup>112</sup> 2003
Aglepristone	13	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, 7, and 14	Recovery in 46%	Gurbulak et al, <sup>113</sup> 2005
Aglepristone	20	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, and 8 and if not cured on day 15	Recovery in 60%	Fieni, <sup>107</sup> 2006
Aglepristone + cloprostenol	32	Aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, and 8 and if not cured on days 14 and 28 + cloprostenol: 1 µg/kg SC q 24 h on days 3–7	Recovery in 84%; no side effect of cloprostenol in 45% of the bitches; in 56% some side effects were noted: loss of appetite, lethargy, vomiting, nausea; 19% recurrence; in closed cervix pyometra cases: recovery in 76.5%, in open cervix pyometra recovery in 74.3%; 1 euthanasia due to declining health, 1 death; Follow-up time: 90 d and up to 2 y in 23 bitches; fertility in 80% (4/5 mated bitches)	Fieni, <sup>107</sup> 2006
Aglepristone	73	Traditional protocol: aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, and 7 (N = 26) Modified protocol: aglepristone 10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 3, 6, and 9 (N = 47)	Recovery with traditional protocol in 88%; recurrence: 17%; fertility in 86% Resolution of clinical signs of pyometra with modified protocol, in 100%; recurrence: 0%; fertility in 78% Follow-up after 2 y	Contri et al, <sup>114</sup> 2015

Figure 17 : Protocole de traitement médical pour le pyomètre (2<sup>ème</sup> partie) (Hagman, 2023).

Drug	N	Protocol and Dosage	Outcome and Side Effects	Reference
PGF <sub>2α</sub> (natural)	21	0.1 mg/kg SC q 12–24 h for 3–5 d (6 queens); 0.25 mg/kg was used in 15 queens but was not more effective	Resolution of signs of pyometra and return to cyclicity in 95%; treatment was repeated in 1 queen; fertility in 81%; no difference between the 2 different dosages (ie, the lower dosage recommended); transient side effects observed in 76%: vocalization, panting, restlessness, grooming, tenesmus, salivation, diarrhea, kneading, mydriasis, emesis, urination, and lordosis lasting up to 60 min. Recurrence of pyometra in 14% (3 cats)	Davidson et al, <sup>9</sup> 1992
Prostaglandin F <sub>2α</sub> (synthetic analog cloprostenol)	5	5 μg/kg SC q 24 h for 3 consecutive days	Resolution of signs of pyometra in 100%; no recurrence after 1 y; fertility in 40%; transient side effects: diarrhea, vomiting, vocalization	Garcia Mitacek et al, <sup>79</sup> 2014
Progesterone receptor blocker (aglepristone)	10	10 mg/kg SC q 24 h on days 1, 2, and 7 and on day 14 (if not cured)	Resolution of signs of pyometra in 90%; no recurrence after 2-y follow-up; no side effects observed	Nak et al, <sup>78</sup> 2009
Progesterone receptor blocker (aglepristone)	5	15 mg/kg SC q 24 h on days 0, 2, 5 and 8.	Resolution of signs of pyometra in 100%; no side effect but early new estrus; fertility and kittens in 75%	Attard et al, <sup>119</sup> 2020

### 3. Les facteurs de risque du pyomètre

#### A. Anatomique

Comme nous avons pu le voir dans la première partie, l'utérus de la chienne est un utérus bifide. Ainsi, sa conformation ne permet pas facilement, en l'absence de contractions, une vidange complète de l'utérus conduisant à une accumulation de mucus, une remontée de bactéries provenant du vagin et une prolifération bactérienne (Nudelmann, 2020).

Par ailleurs, l'espèce canine est une espèce mono-œstrienne, non saisonnière composée d'une phase de dioestrus très longue pouvant aller jusqu'à 3 mois. Or, c'est pendant la phase de dioestrus que le corps jaune est présent sécrétant la progestérone. Cette dernière est une hormone clé dans la pathogénie du pyomètre par l'environnement propice qu'elle crée (Nudelmann, 2020).

#### B. Critère épidémiologique

L'étude réalisée par Hagman et al. publiée en 2011 s'intéressait aux facteurs de risques du pyomètre et notamment à l'influence de l'âge, de la race, de la parité et de la présence d'antécédents de certaines affections telles que la lactation de pseudo-gestation.

Ainsi, ces auteurs prétendaient que la nulliparité était un facteur de risque de pyomètre. À l'inverse, la gestation semblerait être un facteur protecteur. En effet, le mécanisme n'est pas encore compris mais il semblerait qu'après chaque gestation un renouvellement de l'endomètre permette de rééquilibrer la sensibilité aux variations hormonales. Toutefois, leur étude n'a pas permis de montrer une réelle association significative entre la nulliparité, la gestation et la présence d'un pyomètre (Figure 18).

Case history parameters	No pairs	Pyometra cases		Control dogs		P
		No	%	No	%	
Pseudopregnancy						
No	86	55	64	53	62	0.74
Mild	86	15	17	18	21	NT
Moderate	86	12	14	9	10	NT
Severe	86	4	5	6	7	NT
Moderate to severe	86	16	16	15	17	0.85
Oestrus interval						
Regular	78	67	86	73	94	0.11
Nulliparity	87	75	86	67	77	0.12
Hormone treatment	87	9	10	8	9	0.62
Oestrus postponement, continuous	87	4	6	3	3	0.71
Oestrus postponement, single	87	3	3	0	0	NE
Abortion	87	1	1	5	6	0.10
Urinary tract infections	87	9	10	8	9	0.78
Mammary tumour/s	87	8	9	7	8	0.80
Skin disease	87	9	10	9	10	0.81
Gastro-intestinal disease	87	7	8	4	5	0.32
Respiratory disease	87	0	0	0	0	NE

Figure 18 : Facteurs épidémiologiques associés à la présence de pyomètre (Hagman et al., 2011).

Si on s'intéresse plus particulièrement à ce tableau, on remarque que chez les chiennes ayant présenté une lactation de pseudo-gestation, le nombre de pyomètre n'est pas significativement

différent des chiennes n'ayant pas présenté de lactation de pseudo gestation (55 vs 53) signifiant ainsi que cette affection n'est pas un facteur dans l'apparition du pyomètre. Par ailleurs, la nulliparité ne semblait pas non plus être significativement associée à l'apparition d'un pyomètre (75 vs 63,  $p=0,11$ ).

Concernant l'âge, il a été démontré que plus la chienne était âgée et plus celle-ci était à risque de présenter un pyomètre. Cela peut être dû à différents mécanismes. On peut citer premièrement la perte de tonus musculaire de l'utérus qui entraîne une mauvaise vidange de cet organe (Nudelmann, 2020). Au fur et à mesure que la chienne vieillit, le nombre de cycles hormonaux augmente. Une imprégnation de P4 a lieu à chaque cycle, favorisant ainsi un environnement propice aux infections utérines. (Nudelmann, 2020)

Enfin, l'étude d'Hagman et al. en 2011, a démontré que les chiennes présentant des signes de lactation de pseudo-gestation étaient moins amenées à présenter un pyomètre. Toutefois, il n'a pas été démontré réellement que la pseudo-gestation était un facteur protecteur. Si l'on s'intéresse aussi à la relation pyomètre et tumeur mammaire, il n'a pas été démontré d'association significative. Néanmoins, nous en parlerons dans la suite, les races prédisposées au pyomètre présentent également une incidence élevée pour les tumeurs mammaires.

### **C. Prédisposition raciale**

Certaines races se sont révélées être plus fréquemment affectées que d'autres par le pyomètre par différentes études.

Deux études se sont intéressées aux races " prédisposées" au pyomètre. Il s'agit de l'étude de Jitpean et al. publiée en 2012 traitant de l'incidence du pyomètre et des tumeurs mammaires en fonction des différentes races. Une autre étude datant de 2001 s'intéressant uniquement à l'incidence du pyomètre au sein des différentes races a été réalisée (Egenvall *et al.*, 2001). Cette dernière étude a été réalisée sur les chiennes entre 1995 et 1996 tandis que l'étude de Jitpean et al. en 2012 a été réalisée sur les chiennes entre 1995 et 2006.

Ces deux études ont été réalisées en Suède, pays dans lequel la stérilisation de convenance est interdite. Ainsi la majorité des chiennes conservent leur appareil reproducteur intact. Dès lors, il est plus courant de retrouver des affections liées aux imprégnations hormonales.

L'étude d'Egenvall et al. en 2011, s'est intéressée aux chiennes assurées en Suède entre 1995 et 1996, ainsi 200 000 chiennes ont pu être incluses dans l'étude. Parmi elles, 3 557 chiennes atteintes de pyomètres ont été identifiées.

Le recrutement des chiennes a été effectué avec une limite d'âge de 10 ans. Au-delà, les chiennes n'étaient pas incluses dans l'étude. Cette limite d'âge est imposée par l'assurance, puisqu'au-delà de 10 ans, les chiennes ne sont plus assurées.

Par ailleurs, les chiennes n'étant plus assurées et n'ayant pas présenté de pyomètre au cours des années 1995 et/ou 1996 étaient sorties de l'étude. Également, pour une race donnée, les résultats présentés ont été ajustés en fonction de la moyenne d'âge d'incidence du pyomètre au sein de cette race limitant ainsi le biais de recrutement.

Ils ont ainsi pu remarquer que parmi ces chiennes, 23-24 % de celles-ci étaient atteintes d'un pyomètre. L'incidence de l'affection au sein des différentes races variait grandement entre 10 à 54 %.

Parmi les races les plus à risque, on retrouvait le Colley, le Rottweiler, le Cavalier King Charles, le Golden Retriever, le Bouvier Bernois et le Cocker Anglais. Les races présentant quant à elles une faible incidence du pyomètre étaient le Basset, le Berger Allemand, le Teckel (notamment miniature) et le Vallhund Suédois. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

L'étude de Jitpean et al. en 2012 a été réalisée sur les chiennes assurées en Suède entre 1995 et 2006. Ainsi, 260 000 chiennes âgées de moins de 10 ans ont pu être incluses dans l'étude. Au sein des 260 000 chiennes, 110 races ont été relevées et 20 423 chiennes ont été diagnostiquées d'un pyomètre.

Dans l'étude de Jitpean et al. en 2012, il a été démontré que les races les plus fréquemment touchées sont le Bouvier Bernois (66 %), le Dogue Allemand (62 %), le Leonberg (61 %), le Rottweiler (58 %), l'Irish Wolfhound (58 %), le Staffordshire Bull Terrier (54 %), le Spitz Loup (52 %), le Bullterrier (52 %), Bouvier des Flandres (50 %), et le Terre-neuve (50 %). L'incidence de la maladie au sein de ces races variait entre 9 % et 66 %, avec une prévalence de 199 /10 000 (soit 0,199).

L'ensemble des résultats est présenté dans le tableau 5.

L'incidence variant énormément entre chaque race laisse suspecter une potentielle implication génétique au sein de la maladie ou éventuellement des facteurs protecteurs au sein d'autres races.

Si on discute plus particulièrement de ces résultats, on peut remarquer que ces deux études ont été réalisées à partir des données de la société d'assurance. Or cette société d'assurance n'assurait que 30% des chiens en Suède en 2001. On peut supposer que ce résultat est plus important en 2012, toutefois cet échantillon n'est pas forcément représentatif de la population des chiens de Suède. Ainsi, il existe un biais de recrutement qui n'est pas quantifiable, car nous ne connaissons pas la population initiale.

Par ailleurs, les deux études ont recruté des chiennes entre 2 mois et 10 ans. Or, nous avons vu que le pyomètre était une affection qui se déclarait à des âges très variés et notamment parmi les vieilles chiennes. Ainsi en excluant une partie des chiennes âgées, un biais de recrutement s'est instauré. Ce biais de recrutement a été pris en compte dans l'étude d'Egenvall et al. en 2001, mais pas dans l'étude de Jitpean et al. en 2012.

Pour finir, les deux études ont été réalisées en prenant en compte les mêmes années : 1995 et 1996 et se basent sur la même assurance. L'étude d'Egenvall et al. en 2001 se veut plus rigoureuse, mais n'a été réalisée que sur deux ans.

Toutefois, on remarque que certaines races ressortent telles que le Rottweiler, le Bouvier Bernois et le Golden Retriever. Également, en 2001, l'American Staffordshire Terrier était une race peu représentée et l'était désormais plus en 2012 comme certaines races. La surreprésentation du pyomètre peut également être un reflet de sa surreprésentation au sein de la population.

Tableau 4 : Risques ajustés de pyomètre et médiane de survie en fonction des différentes catégories d'âges au sein des différentes races (Evengall et al., 2001).

Breed (rank in 1995)	% Adjusted Risk <sup>a</sup> (95% CI)	% Survival <sup>b</sup>		
		4<5	6<7	9<10
1. Collie, roughhaired (4)	4.5 (3.4–5.5)	93	79	54
2. Rottweiler (2)	4.4 (3.3–5.4)	91	72	50
3. Bernese Mountain Dog (5)	3.9 (2.6–5.2)	89	77	46
4. Cavalier King Charles Spaniel (1)	3.8 (3.0–4.6)	95	85	59
5. Golden Retriever (6)	3.3 (2.8–3.8)	96	88	65
6. English Cocker Spaniel (3)	2.8 (2.0–3.5)	99	93	73
7. Boxer (12)	2.7 (1.7–3.7)	98	94	72
8. West Highland White Terrier (10)	2.5 (1.4–3.5)	97	92	74
9. Jämthund (7)	2.4 (1.5–3.3)	96	85	72
10. Shetland Sheepdog (20)	2.4 (1.5–3.3)	96	90	70
11. English Springer Spaniel (14)	1.9 (1.3–2.5)	95	90	75
12. German Shepherd Dog (11)	1.9 (1.5–2.2)	95	91	75
13. Labrador Retriever (13)	1.8 (1.4–2.2)	98	94	78
14. Cairn Terrier (23)	1.6 (0.9–2.3)	96	94	85
15. Poodle, miniature/toy (16)	1.6 (1.0–2.1)	97	93	86
16. Drevler (15)	1.6 (1.1–2.0)	98	92	83
17. Papillon (28)	1.5 (0.7–2.2)	98	96	84
18. Mixed breed (18)	1.4 (1.1–1.7)	98	93	77
19. Finnish Hound (22)	1.4 (0.6–2.2)	99	92	85
20. Flat Coated Retriever (9)	1.4 (0.8–2.0)	99	97	83
21. Yorkshire Terrier (8)	1.3 (0.5–2.1)	98	97	85
22. Gråhund (17)	1.3 (0.7–1.9)	99	95	83
23. Swedish Hound (26)	1.2 (0.7–1.7)	97	95	84
24. Bichon Frisé (21)	1.2 (0.5–1.9)	99	94	89
25. Dachshund (smooth/wirehaired, normal size) (25)	1.1 (0.8–1.4)	99	97	88
26. Bearded Collie (19)	0.9 (0.3–1.5)	98	97	90
27. German Pointer (24)	0.9 (0.3–1.5)	99	98	71
28. Border Collie (29)	0.7 (0.3–1.1)	98	98	88
29. Beagle (27)	0.7 (0.1–1.2)	100	98	90
30. Dachshund, miniature (30)	0.3 (0.1–0.6)	99	96	87

<sup>a</sup> The percentage of female dogs <10 years of age that experienced pyometra in 1996 (using an adjusted denominator).

<sup>b</sup> Calculated using a combined risk formula: total risk in nth age category =  $1 - (1 - \text{risk}_{\text{age category } <1}) \times (1 - \text{risk}_{\text{age category } 1<2}) \times \dots \times (1 - \text{risk}_{\text{age category } n})$ ; 1 - the total risk = % survival. Age categories were 4 to <5 years (4<5), 6 to < 7 years (6<7), and 9 to <10 years (9<10).





## D. Traitement hormonal iatrogène

Les traitements hormonaux tels que le médroxyprogestérone d'acétate ou les traitements aux œstrogènes étaient respectivement utilisés auparavant afin d'empêcher l'apparition des chaleurs et de faire faire avorter les chiennes en début de gestation. De nos jours, ces traitements ne sont quasiment plus utilisés.

Nous nous intéresserons tout de même dans cette partie à leur influence dans l'apparition du pyomètre.

Selon l'étude de Niskanen et Thrusfield publiée en 1998 et l'étude de Hagman et al. en 2011, il a été démontré que les traitements progestatifs n'influencent pas l'apparition du pyomètre.

Ce résultat est à contrebalancer avec l'étude de Von Berky et Townsend publiée en 1998 qui indiquait que l'utilisation de progestagènes était associée à une augmentation de la prévalence pour le pyomètre, le mucomètre, l'hyperplasie glandulokystique ainsi que les tumeurs mammaires.

L'étude de Von Berky et Townsend (1993) se base sur des résultats histologiques de chiennes ovario-hystérectomisées et montre que le traitement au médroxyprogestérone acétate (MPA) était fortement corrélé avec des lésions utérines (distension utérine, purulence, hyperplasie glandulaire, agrégation de cellules inflammatoires visualisées à l'histologie, métaplasie squameuse, dilatation kystique) et notamment le pyomètre.

Toutefois, ces études sont anciennes. Si l'on s'intéresse à la pathogénie du pyomètre, il a été démontré que la présence de progestérone après une imprégnation par les œstrogènes conduisait à la formation d'un environnement propice à une diminution de l'immunité locale, au développement des glandes utérines et à l'hypertrophie des cellules sécrétrices de mucus. Dès lors, on peut vraisemblablement penser qu'effectivement les progestatifs utilisés en phase de proœstrus sont un facteur de risque dans l'apparition du pyomètre.

Selon Xavier. Berthelot, enseignant à l'école vétérinaire de Toulouse, on estime à 12 % la proportion de pyomètre faisant suite à un traitement progestatif, celle-ci étant plus élevée lorsque le traitement hormonal est administré trois jours auparavant le début du proœstrus. (Berthelot, 2005)

Par ailleurs, dans l'étude de Niskanen et Thrusfield publiée en 1998, il avait été démontré avec significativité que les traitements aux œstrogènes étaient corrélés à l'apparition de pyomètre plus tôt chez la chienne ce qui laissait suspecter un facteur de risque. Néanmoins, ces résultats ne sont pas retrouvés dans l'étude d'Hagman.

## E. Gènes de prédisposition

En 2021, Arendt et al. ont publié un article concernant une association entre le gène *ABCC4* et le pyomètre chez le Golden retriever.

Leur étude consistait à sélectionner 98 chiennes de race Golden Retriever atteintes d'un pyomètre puis 98 chiennes saines de la même race et de réaliser une étude pangénomique comparative.

Il s'agissait d'analyser de nombreux marqueurs génétiques chez des individus sains et chez des individus atteints de pyomètre afin de les comparer et de les corrélérer au phénotype correspondant. Cette étude d'association pangénomique a également permis de suggérer que plusieurs facteurs génétiques sont impliqués dans le déterminisme du pyomètre (Arendt *et al.*, 2021). C'est la synergie d'un ensemble de gènes qui favorise l'apparition du pyomètre.

Enfin, cette même étude pangénomique a permis de montrer que des allèles du gène *ABCC4* étaient surreprésentées parmi les chiennes atteintes de pyomètre. L'ensemble de ces résultats est illustré dans la figure suivante.

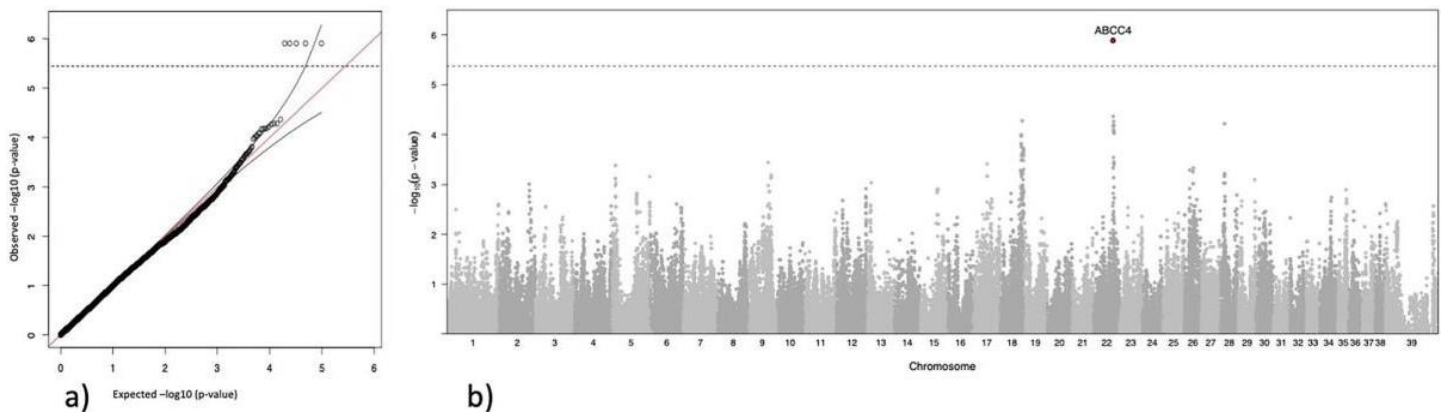


Figure 19 : Etude d'association pangénomique du pyomètre chez le Golden Retriever (Arendt et al., 2021).

La figure de gauche met en évidence un diagramme quantile-quantile ( $y=0,99$ ) qui permet d'évaluer la pertinence de l'ajustement d'une distribution donnée à un modèle théorique. La figure droite représente un Manhattan plot représentant les p-values d'association de chaque marqueur génétique.

Cette association n'était significative qu'après correction avec la méthode de Bonferroni ( $p = 1,2 \times 10^{-6}$ ). La correction de Bonferroni est une méthode statistique qui permet d'ajuster le seuil de significativité dans le cas de comparaisons multiples. Cette correction permet d'ajuster le niveau de confiance de chaque intervalle pour que le niveau de confiance simultané ne soit pas erroné.

Par ailleurs, l'un des SNP situé dans le gène *ABCC4* (Chr22 : 45, 893, 198) était en complet déséquilibre de liaison ( $r^2=1$ ) ( $p = 1,24 \times 10^{-6}$ ). Cela signifie, que ce locus était fortement associé au pyomètre.

Dès lors, afin de caractériser cette association, cette même étude a génotypé ce SNP chez 10 chiennes atteintes d'un pyomètre.

Ils ont montré que plusieurs polymorphismes existaient au sein de ce gène chez les chiennes atteintes d'un pyomètre, quatre mutations faux sens étaient retrouvées (Figure 20).

Chr	Position	Reference	Alternative	Risk allele	Amino acid change	SIFT score	LD with GWAS LOCUS	P value GWAS (98 cases-96 controls)	Allele frequency (98 cases/96 controls) risk allele	Dominant amino acid 100 mammals
chr22	45,815,581	G	A	A	972 [A/T]	Tolerated (0.53)	0.64	$4.9 \times 10^{-4}$	0.14/0.03	A (T not seen in other species)
chr22	45,823,359	G	A	G*	874 [V/I]	Tolerated (1)	Nil	Nil	1.0/1.0	I (V seen in mouse, shrew, dog)
chr22	45,893,198	A	G	A	787 [M/V]	Tolerated (1)	1.00	$1.2 \times 10^{-6}$	0.21/0.05	V (M seen in pig, naked mole rat, chinchilla, brush tailed rat, dog, lizard and flared flycatcher)
chr22	45,934,522	C	T	T	297 [A/V]	Tolerated (0.08)	0.01	0.23	0.74/0.69	A and S (V not seen in other species)

Figure 20 : Quatre polymorphisme du gène *ABCC4* (Arendt et al., 2021).

Si l'on s'intéresse de plus près aux quatre mutations faux sens, on remarque que seulement deux d'entre elles semblent être associées significativement avec le pyomètre sans toutefois qu'une causalité soit mise en évidence.

L'ensemble des mutations faux sens du locus du Chr 22 provoque un changement d'acide aminé (figure 20). Or, ces acides aminés sont localisés au niveau de la boucle cytoplasmique 3 de la protéine *ABCC4*. Un article en médecine humaine a démontré l'importance de la stabilité de cette boucle cytoplasmique. L'expression ainsi que la stabilité de la protéine *ABCC4* seraient impactées par un unique changement d'un acide aminé au niveau de cette boucle.

Il a également été démontré qu'un SNP sur le Chr 22 présenterait une variation de sa fréquence allélique au sein des différentes races, hormis pour le Rottweiler étant presque complètement fixé pour l'allèle à risque. Or, comme nous avons pu le voir, le Rottweiler est l'une des races de chiens présentant le plus grand risque de pyomètre (Jitpean et al., 2012). Cela suggère que cette variante pourrait contribuer au risque de la maladie dans cette race et potentiellement dans d'autres races.

De plus, ils ont révélé que l'association entre les variations des gènes *ABCC4* et *TESMIN* semblait plus prédictive de l'apparition d'un pyomètre que la seule variation du gène *ABCC4*.

Pour finir, dans cette même étude pangénomique, certains gènes semblaient statistiquement plus représentés mais ne permettaient pas de conclure compte tenu de la significativité de leurs résultats. Il s'agit des gènes *SORBS1* (*Sorbin And SH3 Domain Containing 1*), *NAF1* (*Nuclear Assembly Factor 1 Ribonucleoprotein*) et *EMCN* (*endomucine*) (Arendt et al., 2021).

Le gène *EMCN* code pour une glycoprotéine nommée endomucine située au niveau de la lumière des cellules endothéliales et des veinules postcapillaires. Il s'agit d'un site primaire de recrutement des leucocytes pendant l'inflammation.

Il a également été affirmé qu'une diminution de la transcription en endomucine est essentielle pour faciliter l'adhésion des leucocytes dans les tissus inflammés mais aucune contribution n'a été mise en évidence en cas de pyomètre (Zahr et al., 2016).

Concernant le gène *SORBS1*, il a été démontré chez les souris qu'il était significativement impliqué dans la décidualisation (ensemble des modifications de l'endomètre permettant l'implantation du fœtus), qu'une incapacité de ce gène entraînait une diminution de l'angiogenèse et de l'hémostase dans la formation du placenta. Il a été supposé qu'il soit impliqué dans la fertilité chez la souris (Liu *et al.*, 2016).

De même, son rôle chez la chienne n'a pas été établi et son implication dans une possible affection utérine n'est pas décrite au sein des différentes espèces.

Concernant le gène *NAF1*, il a été démontré qu'il était impliqué dans l'homéostasie des télomères. Une perte de sa fonction provoquerait un syndrome de " télomère court" (Stanley *et al.*, 2016).

Son implication chez la chienne n'a également pas été démontrée et son rôle dans une possible infection et/ou affection utérine semble peu probable.

Dans les parties suivantes, nous essayerons d'établir un potentiel lien causal entre le gène *ABCC4*, le gène *TESMIN* et le pyomètre.

### **e.1 Gène *ABCC4***

#### **e.1.1 Fonction connue**

Le gène *ABCC4* code pour une protéine dénommée « multidrug resistance protein MRP4 » et appartient à la famille des transporteurs multiprotéiques (MRP/ABCC). Il fait plus particulièrement partie de la sous-famille des transporteurs de cassettes de liaison à l'ATP qui sont capables de transporter une grande variété de composés organiques anioniques endogènes et xénobiotiques hors de la cellule (annexe 2) (Rius *et al.*, 2005).

En effet, en hydrolysant l'ATP en ADP, cette protéine va permettre de transloquer son substrat à travers la membrane cellulaire contre le gradient osmotique.

Le gène *ABCC4* est très polymorphe et au moins 25 polymorphismes non-synonymes de nucléotides simples ont été identifiés. Il n'est cependant pas encore connu si ces polymorphismes affectent l'expression et la fonction de la MRP et s'ils influencent l'élimination des molécules.

La première fonction de cette sous-famille de protéine avait été décrite en 1999 dans un lymphome T chez l'Homme (Rius *et al.*, 2005).

Chez l'Homme, ce gène est localisé sur le chromosome 13q32,1 tandis que chez le chien, ce gène est localisé sur le chromosome 22 (Rius *et al.*, 2005).

L'unique particularité de la MRP4 est de transporter, au moins *in vitro*, un grand nombre de molécules clés de la communication cellulaire incluant les nucléotides cycliques, l'ADP, les eicosanoïdes, l'urate et les conjugués stéroïdiens hormonaux. Il se distingue également des autres multi-transporteurs par sa spécificité de substrat particulièrement large couvrant à la fois les antiviraux, les antibiotiques, les molécules cardiovasculaires et les molécules cytotoxiques (Rius *et al.*, 2005).

La plupart du temps, ce transporteur est localisé à la membrane basolatérale. À l'inverse, au niveau des cellules du tube proximal du rein et de l'endothélium capillaire, ce transporteur est exprimé à la membrane apicale. Il peut être localisé ainsi dans les testicules, les ovaires, les surrénales, les neurones, mais également au niveau d'une grande variété des cellules de la lignée hématopoïétique (Rius *et al.*, 2005).

### e.1.2 Structure de la protéine codée

La protéine MRP4 a une structure typique d'un transporteur ABC composé de deux domaines comprenant six hélices transmembranaires avec deux domaines de liaisons à l'ATP. Ces domaines de liaison à l'ATP vont permettre d'hydrolyser l'ATP afin d'assurer le transport du substrat (figure 21).

Par ailleurs, contrairement aux autres MRP, la protéine MRP4 manque d'un segment N-terminal constitué en temps normal de 5 domaines transmembranaires permettant une affinité plus importante pour les prostaglandines. Enfin sa partie N-terminale semble plus petite (87-225 acides aminés) que les autres MRP et sa partie C-terminale semble plus longue bien qu'elle n'explique pas la grande variété de substrat de la protéine MRP4 face aux autres protéines MRP.

Les interactions entre les substrats de la protéine observées in vitro sont complexes et suggèrent l'existence de sites régulateurs pouvant influencer de manière allostérique l'activité de la protéine.

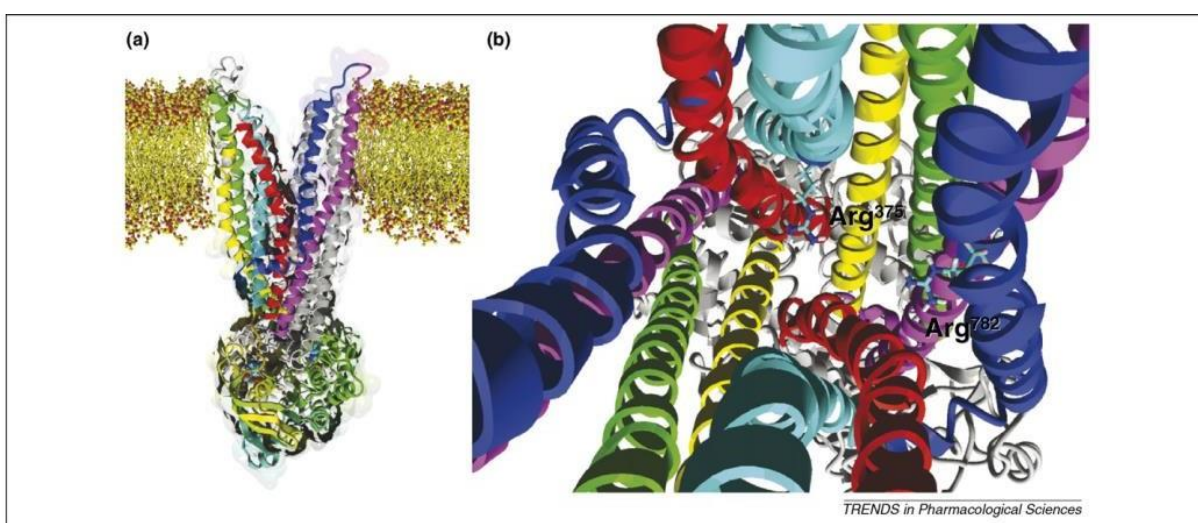


Figure 21 : Modèle d'homologie de la protéine MRP4 humaine (Rius et al., 2005).

Le modèle a été construit en utilisant les structures connues aux rayons X du transporteur ABC bactérien "Sav1866" de *S.aureus* ainsi que le domaine de liaison à l'ATP de la glycoprotéine humaine MRP1.

### e.1.3 Rôle du gène *ABCC4* dans le transport des signaux de communication

Comme nous avons pu le voir, la protéine MRP4 intervient dans le transport de nombreuses molécules et notamment dans celui des prostaglandines et des nucléotides cycliques (AMPc notamment) qui sont impliqués dans les voies de signalisations intracellulaires.

Selon l'étude de Ping Lin et al. en 2008, il a été suggéré que la protéine MRP4 fonctionne comme un mécanisme de surcharge et qu'elle permet d'éliminer l'excédent d'AMPc.

Selon cette même étude, il a aussi été démontré que la perte de la fonction de la protéine MRP4 provoquait une diminution de la régulation du gène *COX2*.

Qui plus est, en réalisant une inactivation du gène, il a été affirmé qu'une perte de la fonction en MRP4 provoquait une diminution des concentrations extracellulaires en PGE2. Ce résultat est contradictoire avec ce qu'on pourrait penser dans le cas de perte de la fonction d'un transporteur.

En effet, on s'attendrait à voir une augmentation de la concentration en cette molécule au niveau extracellulaire qui ne pourrait ainsi plus être transportée. Dès lors, cette étude est partie du postulat que la dégradation des prostaglandines devait être activée notamment par la diminution d'expression des cyclooxygénases.

Par ailleurs, d'autres études ont montré l'interaction entre la protéine MRP4 et les prostaglandines, notamment via leur voie de synthèse. Selon une étude en médecine humaine de Rius et al. (2005), l'expression de la protéine MRP4 et des COX2 a lieu au même endroit, dans l'épithélium des vésicules séminales. Or, les vésicules séminales sont une source de prostaglandines.

On peut supposer qu'une expression similaire chez le chien serait également possible. Cette étude conclut que la protéine MRP4 est indispensable pour les cellules produisant activement des prostaglandines. Ainsi, une diminution de la concentration plasmatique en PGE2 dans le cadre d'une extinction du gène *ABCC4* est plus à même de provoquer un stimulus nociceptif important.

Néanmoins, les prostaglandines stimulent la dilatation cervicale et permettent l'augmentation de la contraction du myomètre favorisant ainsi une expulsion du liquide utérin. Les prostaglandines présentent également un effet lutéotrope et vont entraîner la lyse de la « *copora lutea* » étant la seule source de progestérone (Bergström, 2017).

Dès lors, on peut supposer qu'une diminution de la concentration en PGF2 $\alpha$  au niveau extracellulaire peut conduire à une absence de stimulation dans la dilatation cervicale empêchant l'expulsion des fluides créant alors un milieu plus propice aux infections utérines. Nous avons vu également que la progestérone était l'hormone clé dans la pathogénie du pyomètre. En l'absence d'un mécanisme lutéotrope, on peut présumer que l'imprégnation en progestérone est plus importante ou s'effectue sur un plus long terme favorisant ainsi l'apparition d'un pyomètre.

Ces dernières hypothèses ne sont que le reflet de mes recherches et nécessiteraient de plus amples investigations.

## **e.2 Gène « *TESMIN* »**

### **e.2.1 Fonction connue**

Le gène *TESMIN* code pour une protéine dénommée TESMIN. Cette dernière présente une homologie avec le motif de liaison aux métaux de la famille des métallothionéines (Olesen *et al.*, 2004).

Or les protéines métallothionéines sont supposées agir dans la spermatogénèse. Ce sont des protéines riches en cystéine et de faible poids moléculaire. Ces protéines sont induites par les ions de métaux lourds qui s'y lient. Par ailleurs, elles n'ont pas d'activité enzymatique.

Ces protéines agissent également afin de séquestrer les métaux lourds toxiques non essentiels, de réguler le métabolisme des métaux lourds et en particulier celui du zinc (Olesen *et al.*, 2004).

Au sein de ces protéines, le zinc est nécessaire à la fois à leur intégrité et à leur action catalytique. Parmi ces dernières, on retrouve les enzymes pour les facteurs de transcription, les récepteurs de stéroïdes ainsi que les métallothionéines.

Ainsi, en modulant l'apport de zinc, les protéines MT peuvent jouer un rôle central dans la régulation de la croissance et de la différenciation (Olesen *et al.*, 2004).

### **e.2.2 Rôle du gène *TESMIN* sur les gonades**

L'étude de Sikhara *et al.* (1999) a montré que la protéine TESMIN intervenait dans la spermatogénèse dont la fonction restait encore à définir.

Selon Olesen *et al.* en 2004, la protéine TESMIN est transcrite spécifiquement au niveau du testicule et commence à s'accumuler dans les spermatocytes de souris à partir de 8 jours.

Le but de l'étude précédente était de comparer l'expression de ce gène à la fois dans le tissu ovarien et dans le tissu testiculaire. Elle a permis de montrer que la protéine TESMIN était à la fois transcrite dans le tissu ovarien fœtal et au niveau du cœur. On retrouvait plus particulièrement la transcription de cette protéine sur la prophase I de la méiose (E14 1/2). En revanche, on ne retrouvait pas de transcription dans le tissu ovarien adulte à l'inverse de chez les spermatozoïdes.

Par ailleurs, une étude s'intéressant à une protéine similaire à la protéine TESMIN chez *Arabidopsis Thaliana* a été réalisée en 2007 (Andersen *et al.*, 2007). Selon cette étude, la protéine TSO1-LIKE CXC interviendrait dans le développement ovarien ainsi que dans sa fertilité laissant supposer un rôle similaire à la protéine TESMIN.

Selon une étude réalisée par Kalma *et al.* en 2009, il a été démontré qu'une lésion de l'endomètre provoquait significativement l'augmentation de l'expression de certains gènes. Parmi ces derniers, on retrouve notamment les métalloprotéines et plus particulièrement la protéine TESMIN qui était transcrite 2,2 fois plus. Même si le mécanisme n'est pas totalement compris, il a été suggéré chez la souris que les métalloprotéines sont des protéines transcrites en réponse à un stress.

Pour conclure, la protéine TESMIN semblerait, chez l'Homme, intervenir dans le développement ovarien et plus particulièrement testiculaire, dans la fertilité ainsi que dans la réponse de ses différents tissus à la suite d'un stress. Aucune étude pour le moment n'a permis d'établir ce rôle dans l'espèce canine.

Même si son rôle dans le tissu ovarien semble se déchiffrer au cours des années, aucun lien causal ne peut être défini.





# Deuxième partie : Étude rétrospective entre 2002 et 2022 sur des chiennes atteintes de pyomètres présentées au CHUV-AC de l'EnvA

---

## 1. Introduction

Le pyomètre signifie littéralement « pus dans l'utérus ». Il s'agit d'une affection touchant la chienne entière d'âge moyens à élevés dont la médiane se situe à 7 ans (Hagman, 2023). Dans la majorité des cas, la chienne se situe en diœstrus. Comme nous avons pu le voir, il existe deux types de pyomètre : les pyomètres à col fermé et les pyomètres à col ouvert. Les chiennes sont généralement présentées pour des écoulements vulvaires, une polyuro-polydipsie, un abattement et de l'anorexie. Les signes lors de pyomètres à col fermé peuvent parfois être plus frustes et/ou présentés avec un état général plus dégradé que lors de pyomètres à col ouvert.

Il a été démontré qu'il existait une prédisposition raciale. En effet, selon Egenvall et al. en 2001 ainsi que Jitpean et al. en 2022, certaines races telles que le Leonberg, le Golden Retriever, le Cane Corso et le Rottweiler sont des races majoritairement représentées dans l'affection qu'est le pyomètre.

L'objectif de cette étude rétrospective était dans un premier temps d'étudier l'ensemble des cas présentés au CHUV-AC de l'EnvA dont le diagnostic final de pyomètre a été réalisé entre 2002 et 2022. Avec ces données, un histogramme des races des chiennes de cet échantillon est créé et comparé aux données des articles précédemment cités. En confirmant l'existence d'une surreprésentation des races au sein de l'affection du pyomètre, on peut dès lors présumer qu'il pourrait exister des facteurs génétiques au sein du pyomètre.

Un autre objectif de cette étude était également d'établir un tableau de signes cliniques ainsi qu'une pyramide des âges pour lesquels les chiennes atteintes de pyomètre étaient présentées au CHUV-AC.

## 2. Matériels et méthodes

Cette étude rétrospective a été réalisée sur l'ensemble des chiennes présentées au CHUV-AC entre 2002 et 2022 et dont le diagnostic final de pyomètre avait été réalisé. Le but de cette étude était de déterminer si, à l'échelle du CHUV-AC, une surreprésentation de certaines races pouvait se dégager et si cela était cohérente avec les données de la littérature.

Dans un second temps, un tableau de signes cliniques ainsi qu'une pyramide des âges ont été établis pour les chiennes atteintes de pyomètres présentées au CHUV-AC.

Pour cela, à l'aide de la banque de données du Logiciel Clovis remontant jusqu'à 2002, 310 cas ont été recensés jusqu'à 2022. Cette date limite d'inclusion a été choisie pour des raisons pratiques dans la réalisation de cette thèse.

Afin d'inclure le maximum de cas dans notre étude rétrospective, la recherche des cas de pyomètre, s'est réalisée via la recherche de mots-clés suivants :

- « Pyomètre » à la fois dans la conclusion, le bilan anamnestic clinique et l'examen clinique ;
- Via la fonction « mot clé » de CLOVIS ont été recherchés les termes suivants : « endométrite » et « pyomètre » ;
- Via la recherche des chiennes ayant subi une ovario-hystérectomie et dont la conclusion chirurgicale et/ou la consultation mentionnait le terme de pyomètre ;
- Via le mot « aglépristone » représentant le traitement de choix médical pour le pyomètre ;

Enfin, les chiennes dont la race n'était pas mentionnée dans les informations CLOVIS ont été exclues de l'étude car elles ne permettaient pas d'évaluation d'une prédisposition raciale.

L'ensemble des cas a ainsi été retranscrit dans un fichier Excel comprenant le numéro Clovis, le nom de l'animal, l'âge, la race, les signes cliniques, le type de pyomètre, les comorbidités associées et le traitement réalisé.

### **3. Résultats**

#### **A. Histogramme des races des chiennes atteintes de pyomètre**

Trois-cent-dix cas ont pu être recensés parmi l'ensemble des chiennes atteintes de pyomètre et présentées au CHUV-AC de l'EnvA entre 2002 et 2022. Sur ces 310 cas, quatre ne présentaient pas de données quant à leur race et ont été exclus de l'étude.

Sur les 306 cas inclus dans l'étude, 64 races ont été recensées plus une chiennes « croisée ». La répartition raciale des chiennes atteintes de pyomètre est présentée dans la figure n°22.

Ces différentes races ont été réparties selon les groupes définis par la fédération cynologique internationale. Lors de cette étude, aucunes chiennes du groupe 10 (Lévriers) ont été incluses dans l'étude. Il ne figure donc pas sur l'histogramme

Figure 22 : Histogramme des races présentées au CHUV-AC entre 2002 et 2022 et diagnostiquées pour pyomètre

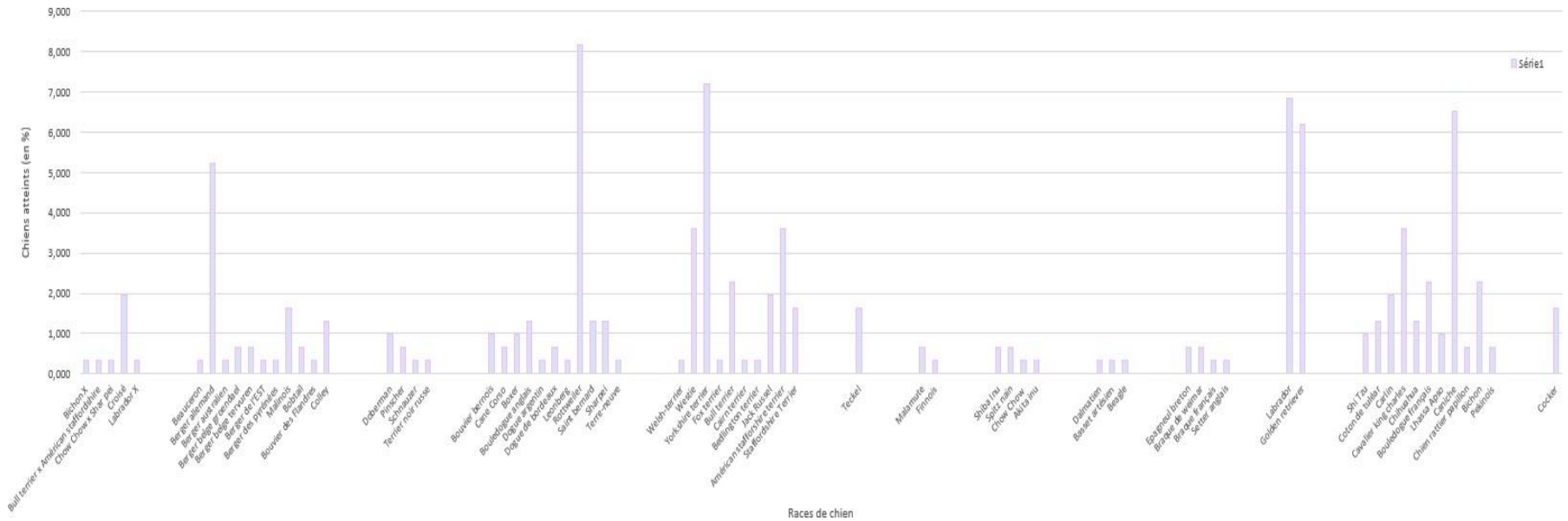


Figure 23 : Histogramme des races des chiennes présentées aux CHUV-AC et atteinte de pyomètre.  
Répartition en fonction des différents groupes de chiens établi par la FCI.

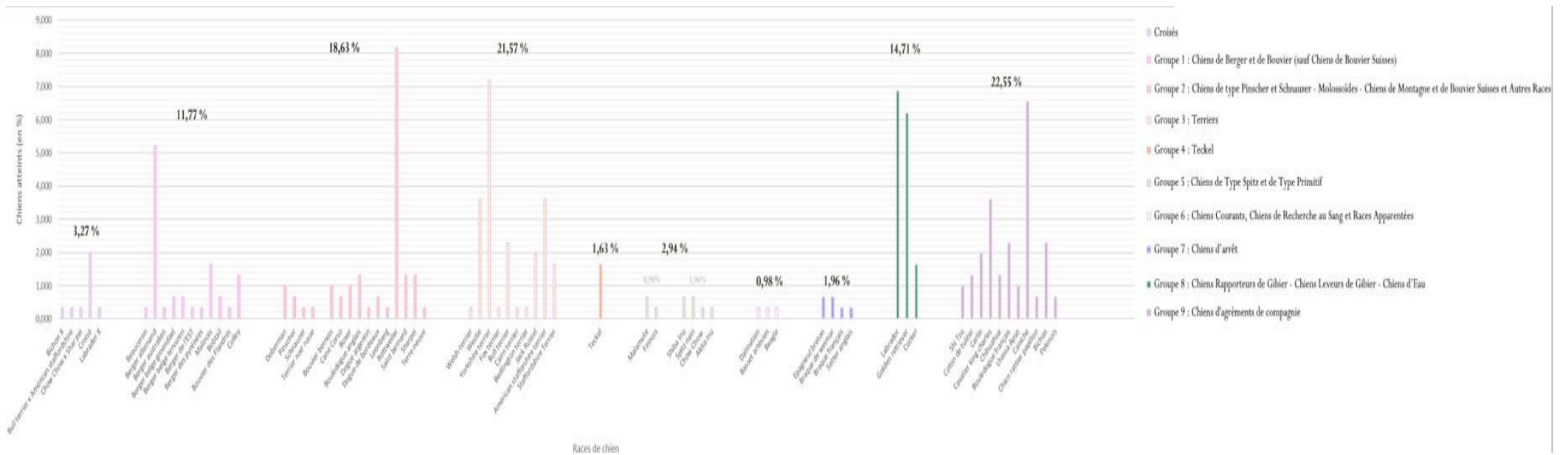


Tableau 6 : Comparaison de l'incidence du pyomètre selon la race et sa représentation dans les chiennes atteintes de pyomètre au CHUV-AC entre 2002 et 2022.

Races	Chiens atteints (en %) Etude rétrospective 2002-2022	Données relatives à l'étude de Jitpean et al. 2012 (Incidence en %)	Races	Chiens atteints (en %) Etude rétrospective 2002-2022	Données relatives à une étude de Jitpean et al. 2012 (Incidence en %)
<b>Groupe 9 : Chiens d'agrément de compagnie</b>	<b>22,55</b>		<b>Groupe 1 : Chiens de Berger et de Bouvier (sauf Chiens de Bouvier Suisses)</b>	<b>11,77</b>	
Shi Tzu	0,98 (n=3)	16	Beauceron	0,33(n=1)	/
Coton de Tuléar	1,30 (n=4)	5	Berger allemand	5,21(n=16)	31
Carlin	1,95 (n=6)	48	Berger australien	0,33(n=1)	/
Cavalier King Charles	3,58 (n=11)	48	Berger belge groendael	0,65(n=2)	/
Chihuahua	1,30 (n=4)	23	Berger belge Tervuren	0,65(n=2)	/
Bouledogue français	2,28 (n=7)	48	Berger de l'EST	0,33(n=1)	8
Lhasa Apso	0,98 (n=3)	26	Berger des Pyrénées	0,33(n=1)	43
Caniche	6,51 (n=20)	26	Malinois	1,63(n=5)	33
Chien ratier papillon	0,65 (n=2)	33	Bobtail	0,65(n=2)	42
Bichon	2,28 (n=7)	16	Bouvier des Flandres	0,33(n=1)	50
Pékinois	0,65 (n=2)		Colley	1,30(n=4)	44
<b>Groupe 3 : Terriers</b>	<b>21,57</b>		<b>Croisés</b>	<b>3,27</b>	<b>24</b>
Welsh-terrier	0,33 (n=1)	20	Bichon X	0,33 (n=1)	
Westie	3,58 (n=11)	24	Bull terrier x American Staffordshire	0,33 (n=1)	
Yorkshire terrier	7,17 (n=22)	21	Chow Chow x Shar Pei	0,33 (n=1)	
Fox terrier	0,33 (n=1)	/	Croisé	1,95 (n=1)	
Bull terrier	2,28 (n=7)	52	Labrador X	0,33 (n=1)	
Cairn terrier	0,33 (n=1)	22	<b>Groupe 8 : Chiens Rapporteurs de Gibier - Chiens Leveurs de Gibier - Chiens d'Eau</b>	<b>14,71</b>	
Bedlington terrier	0,33 (n=1)	17	Labrador	6,84 (n=21)	28
Jack Russel	1,95 (n=6)	12	Golden retriever	6,19 (n=19)	36
American Staffordshire terrier	3,58 (n=11)	/	Cocker	1,63 (n=5)	36
Staffordshire Terrier	1,63 (n=5)	54	<b>Groupe 4 : Teckels</b>	<b>1,63 (n=5)</b>	<b>15</b>
<b>Groupe 2 : Molossoïdes</b>	<b>16,34</b>		<b>Groupe 5 : Spitz et apparentés</b>	<b>1,96</b>	
Bouvier bernois	0,98 (n=3)	66	Shiba Inu	0,65 (n=2)	17
Cane Corso	0,65 (n=2)	/	Spitz nain	0,65 (n=2)	52
Boxer	0,98 (n=3)	28	Chow Chow	0,33 (n=1)	/
Bouledogue anglais	1,30 (n=4)	48	Akita inu	0,33 (n=1)	/
Dogue argentin	0,33 (n=1)	/	<b>Groupe 5 : Chiens de Type Primitifs</b>	<b>0,98</b>	
Dogue de bordeaux	0,65 (n=2)	/	Malamute	0,65 (n=2)	40
Leonberg	0,33 (n=1)	61	Finnois	0,33 (n=1)	20
Rottweiler	8,14 (n=25)	58	<b>Groupe 7 : Chiens d'arrêts</b>	<b>1,95</b>	
Saint Bernard	1,30 (n=4)	/	Epagneul breton	0,65 (n=2)	/
Shar-peï	1,30 (n=4)	/	Braque de Weimar	0,65 (n=2)	/
Terre-neuve	0,33 (n=1)	50	Braque français	0,33 (n=1)	/
<b>Groupe 2 : Type Pinscher et Schnauzer</b>	<b>2,29</b>		Setter anglais	0,33 (n=1)	21
Doberman	0,98 (n=3)	43	<b>Chiens courants</b>	<b>0,98</b>	
Pinscher	0,65 (n=2)	/	Dalmatien	0,33 (n=1)	16
Schnauzer	0,33 (n=1)	/	Basset artésien	0,33 (n=1)	28
Terrier noir russe	0,33 (n=1)	11	Beagle	0,33(n=1)	20

Si l'on s'intéresse à ces différents éléments, dans un premier temps, on constate qu'effectivement certaines races sont majoritairement représentées au CHUV-AC (figure 22). Parmi les races surreprésentées, on retrouve le Rottweiler (1<sup>er</sup>), le Yorkshire Terrier (2<sup>ème</sup>), le Labrador (3<sup>ème</sup>), le Caniche (4<sup>ème</sup>), le Golden Retriever (5<sup>ème</sup>), le Berger allemand (6<sup>ème</sup>), l'American Staffordshire Terrier, le Westie, le Cavalier King Charles (7<sup>ème</sup>) ainsi que le Bichon, le Bull Terrier et le Bouledogue anglais (10<sup>ème</sup>).

Également, on constate que certains groupes de la FCI sont majoritairement représentés au CHUV-AC (figure 23). Parmi les groupes, on retrouve une majorité des chiens de compagnie avec le groupe 9 en première position (22,55%).

Par ailleurs, si on s'intéresse au tableau comparant le pourcentage des races de chiennes présentées au CHUV-AC de 2002 à 2022 et l'incidence du pyomètre dans ces différentes races selon Jitpean et al. en 2012. On peut remarquer que parmi les races les plus représentées au CHUV-AC, ces races présentent une incidence élevée pour le pyomètre.

En effet, le Rottweiler situé premier dans notre étude présente une incidence de 56 % pour le pyomètre soit la 3<sup>ème</sup> incidence la plus élevée (Jitpean *et al.*, 2012). Par ailleurs, les races suivantes : Berger Allemand, American Staffordshire Terrier, Bouledogue Anglais, Golden Retriever, Labrador, Caniche présentent une incidence pour le pyomètre supérieure à la moyenne de 19 % (Jitpean et al., 2012) et sont parmi les 10 races les plus fréquemment représentées au CHUV-AC chez les chiennes atteintes de pyomètre.

On note également que dans notre étude certaines races telles que le Cavalier King Charles, le Bichon, le Westie, le Yorkshire Terrier font partie des races les plus représentées tandis que ces dernières présentent une incidence plus faible que la moyenne pour le pyomètre.

Au contraire, certaines races présentant une incidence élevée pour le pyomètre telle que le Spitz, le Terre-Neuve, l'Irish Wolfhund, le Dogue Allemand, le Bouvier Bernois dont l'incidence est la plus élevée pour le pyomètre sont sous-représentées dans notre étude.

## B. Signes cliniques, pyramide des âges et répartition pyomètre col ouvert/col fermé

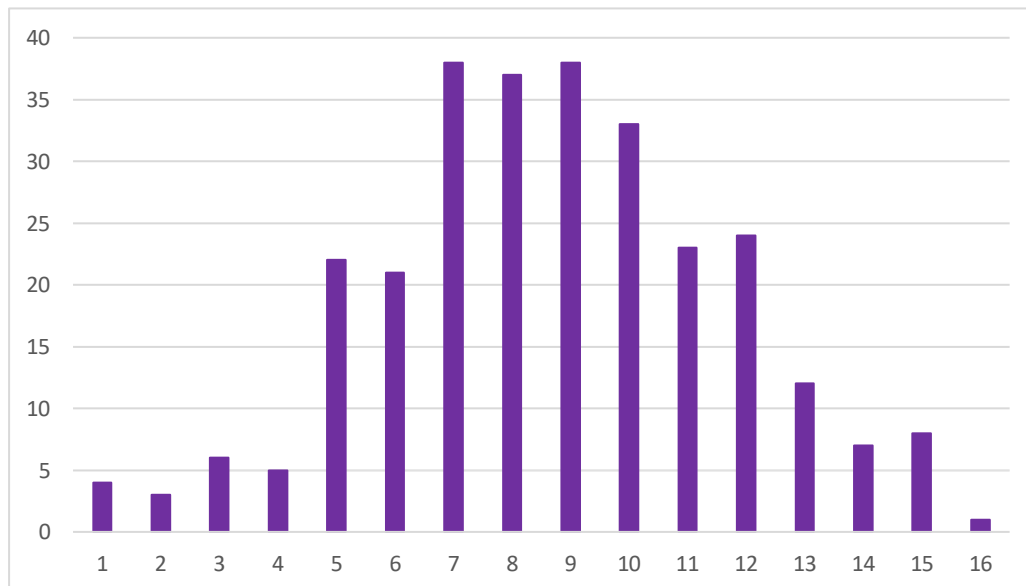


Figure 24 : Pyramide des âges des chiennes présentées au CHUV-AC en 2002 et 2022.

Dans un premier temps, on constate que la gamme des âges des chiennes présentées au CHUV-AC et diagnostiquées avec un pyomètre sont très variable allant de 1 an à 16 ans environ. Par ailleurs, la moyenne de présentation de ces chiennes est de  $8,47 \pm 3,25$  ans. L'ensemble de la courbe suit une représentation gaussienne.



Tableau 7 : Comparaison des signes cliniques entre l'étude rétrospective et les données de la littérature.

Signes cliniques	% de chiens atteints selon l'étude rétrospective (N=306)	% des chiens atteints selon les données de la littérature (Hagman, 2023) (N= 621)
Écoulement vulvaire	84 %	57-88 %
Dysorexie/Anorexie	51,96 %	42-87 %
Abattement	43,14 %	63-100 %
Polyuro-polydipsie	38,24 %	Polydipsie : 28-89 % Polyurie : 34-73 %
Douleur abdominale	29,41%	23-80 %
Vomissement	23,12 %	13-38 %
Diarrhée	9,48 %	0-27 %
Vulve œdématiée	2,94 %	/
Amaigrissement	2,61 %	/
Difficultés respiratoires	0,65 %	/

On constate que la majorité des signes cliniques décrits chez les chiennes présentées au CHUV-AC et diagnostiquées avec un pyomètre sont dans les mêmes intervalles de pourcentage de signes cliniques des chiennes atteintes de pyomètre dans la littérature, excepté pour le signe clinique « abattement ».

## 4. Discussion

L'objectif de cette étude était d'établir dans un premier temps une étude rétrospective, la plus complète possible. Il a été particulièrement difficile de recenser les cas de pyomètre entre 2010 et 2022 ce qui s'explique notamment via la recherche de mots-clés. Parfois, les mots-clés ne sont pas forcément inclus dans les compte-rendus. Il n'existait également pas de mot-clé contenant le terme d'aglépristone. Ceci aurait pu permettre d'inclure plus de cas de pyomètre traité médicalement.

On peut suggérer qu'entre 2002 et 2010, le pyomètre était difficilement traité en clinique généraliste par la difficulté que représentait la gestion thérapeutique. Désormais, les pyomètres à col ouvert sont plus facilement traités en clinique généraliste tandis que les pyomètres à col fermé qui eux sont plus frustes ou qui représentent une urgence plus importante ne le sont pas. Cette hypothèse est corrélable avec l'augmentation du ratio pyomètre col fermé sur pyomètre col ouvert au cours des 10 dernières années.

Concernant la réalisation de notre histogramme des races de chiennes présentées aux CHUV-AC et diagnostiquées pour pyomètre, nous avons pu constater que le Rottweiler était la race la plus représentée aux CHUV-AC. Or, le Rottweiler présente la 3<sup>ème</sup> incidence pour le pyomètre (62 %) selon Jitpean et al. Qui est plus, on peut penser que parmi les races d'Îles de France, le Rottweiler ne fait pas partie des races les plus représentées.

Par ailleurs, parmi les races les plus représentées dans notre étude statistique, la majorité présente une incidence pour le pyomètre plus importante que la moyenne établie par Jitpean et al. en 2012. Ces résultats nous laissent penser qu'il puisse effectivement exister une prédisposition raciale.

Toutefois, l'ensemble de ces races figurent parmi les races les plus représentées en France en 2022 (annexe 5). On peut présumer qu'il existe un biais de recrutement dans notre étude dont les conséquences sont difficilement évaluables.

Qui plus est, nous avons pu constater que le Cavalier King Charles, le Bichon, le Westie ainsi que le Yorkshire Terrier font partie des races les plus représentées tandis que leurs incidences pour le pyomètre sont inférieure à la moyenne. Or, il est vraisemblable de penser que les petits chiens de compagnie font partie des races les plus représentées en Île-de-France à l'origine du biais observé. Ces suppositions sont confirmées par l'histogramme des races d'Île-de-France (annexe °5)

Au contraire, nous avons observé que les races telles que le Saint-Bernard, le Cane Corso ou le Leonberg figurant parmi les races dont les incidence sont les plus élevée n'étaient pas surreprésentées dans notre étude. Il est également plausible que ces races-là soient sous-représentées dans la population que constituent les chiens d'Île de France causant le biais observé.

Il aurait été possible de confirmer une prédisposition raciale si nous connaissions parfaitement la population initiale afin de pondérer nos valeurs par rapport à celle-ci.

Enfin, concernant les signes épidémio-cliniques, ceux-ci sont en accord avec la littérature ce qui était attendu à l'exception de l'abattement. Cette différence observée est probablement due à une collecte incomplète de cette données.



# Troisième partie : Création d'une cohorte multi-races de chiennes atteintes de pyomètre

---

## 1. Introduction

Deux articles suggèrent une prédisposition raciale au pyomètre (Egenvall et al. 2001, Jitpean et al. 2012) qu'il existait une prédisposition raciale au pyomètre. Ainsi, l'étude d'Arendt et al. en 2021 réalisait une association pangénomique. Il s'agissait d'une analyse de marqueurs génétiques chez près de 200 chiennes Golden Retriever afin de révéler des locus candidats dans l'affection du pyomètre. Ils ont mis en évidence chez le Golden Retriever, une association significative entre le gène *ABCC4* et le pyomètre. Par ailleurs, ils ont montré que chez les chiennes Golden Retriever, il existait quatre SNP sur le chromosome 22 dans le gène *ABCC4* qui étaient associés à la maladie. Cette affection est probablement polygénique et liée à des variations dans des locus situés au sein de différents gènes.

Parmi l'ensemble des gènes pouvant être associés au pyomètre, on retrouve les gènes *ABCC4*, *TESMIN*, *NAF1*, *SORBS1* et *ECMN* (Arendt et al., 2021).

Concernant le gène *ABCC4*, il a été montré que celui-ci codait pour un multi-transporteur aux protéines, notamment des protéines intervenant dans les voies de communications intracellulaires ou dans le transport des protéines. Cependant, un lien direct n'a pas pu être établi entre dysfonction de ce transporteur, les prostaglandines et l'affection du pyomètre.

D'autre part, le gène *TESMIN* code pour une protéine de même nom de TESMIN. Cette dernière présente une homologie avec le motif de liaison aux métaux de la famille des métallothionéines. Elle intervient chez l'Homme dans le développement ovarien et testiculaire, dans la fertilité ainsi que dans la réponse de ses différents tissus et notamment le tissu ovarien à la suite d'un stress.

Dans cette même étude, il a été montré qu'un SNP sur le Chr 22 a montré une variation de la fréquence des allèles entre les races, hormis pour le Rottweiler étant presque complètement fixé pour l'allèle à risque. Or, comme nous avons pu le voir, le Rottweiler est l'une des races de chiens présentant le plus grand risque de pyomètre. Cet allèle pourrait contribuer au risque de maladie dans cette race et potentiellement dans d'autres races sans qu'aucun lien de causalité de soit démontré.

Le but de notre étude était de constituer une cohorte multi-races de chiennes atteintes de pyomètre afin d'établir une banque génomique qui permettra de tester l'hypothèse suggérée par Arendt et al. en 2021 mais également à plus long terme de réaliser une étude d'association pangénomique.

Cette banque génomique est à disposition de personnes dont le souhait serait d'explorer une possible prédisposition génétique au pyomètre et de déterminer des facteurs génétiques impliqués.

## **2. Matériels et méthodes**

### **A. Recrutement des chiennes**

Des chiennes atteintes de pyomètre ont été recrutées à partir du 01/05/2022. Les chiennes présentées au CHUV-AC et à la clinique vétérinaire Vet in Paris (75011) présentant des signes cliniques compatibles avec un pyomètre ont été incluses dans l'étude.

Un consentement éclairé de prélèvement de sang ou de cellules buccales a été rempli et signé par chaque propriétaire (annexe 3).

Par la suite, le diagnostic probabiliste a été effectué via les outils diagnostiques précédemment cités et notamment par des examens d'imagerie tels que l'échographique abdominale.

Le diagnostic de certitude a été réalisé par une visualisation macroscopique de l'utérus et/ou un examen histologique. Lorsque le diagnostic de pyomètre est réalisé avec certitude, les chiennes ont été incluses dans l'étude.

En présence d'un unique traitement médical, le diagnostic de certitude ne pouvait être établi. Les chiennes ont donc été exclues de l'étude.

Également, lors de décision d'euthanasie, un diagnostic de certitude ne pouvait pas être établi. Les chiennes ont donc été aussi exclues de l'étude.

Lorsque le diagnostic de certitude pour le pyomètre était réalisé, 3 à 5 mL de sang sur tube EDTA étaient prélevés et conservés au réfrigérateur à 4 °C. Une fiche de prélèvement a été mise à disposition au niveau du service d'anesthésie du CHUV-AC ainsi qu'à la clinique vétérinaire Vet in Paris.

### **B. Extraction d'ADN**

Le principe de ce protocole est d'extraire l'ADN de sang total par élution d'ADN fixé sur des billes magnétiques après une lyse mécanique à l'aide du kit d'extraction Maxwell (Promega). Ce protocole permet d'obtenir entre 4 µg et jusqu'à 60 µg d'ADN très pur pour chaque individu.

Le protocole détaillé d'extraction d'ADN est présenté dans l'annexe 4.

### **C. Mesure de la qualité des ADN obtenus**

L'ensemble de la qualité de l'ADN a été vérifié au Nanodrop.

## **3. Résultats**

Au cours de la durée de notre étude s'étalant du 01/05/2022 au 07/07/2023, 22 chiennes ont été prélevées dans l'étude. Deux chiennes ont été exclues de l'étude puisque le diagnostic macroscopique confirmait une autre affection utérine que le pyomètre (mucomètre, hydromètre). Une chienne a été exclue de l'étude, car une décision de fin de vie a été prise par les propriétaires. Dès lors, en absence de confirmation, la chienne ne pouvait être incluse.

Ainsi, 19 chiennes ont pu être incluses dans l'étude : 16 chiennes présentées au CHUV-AC et 3 chiennes présentées à la clinique vétérinaire de Vet in Paris. L'ensemble des informations anonymisées relatives à ses chiennes est présenté dans le tableau 6.

Les informations cliniques et des ADN extraits ont ainsi été conservées au sein de la bio banque cani-DNA disponible au service de Génétique de l'EnvA.

Tableau 8 : Synthèse des informations des chiennes constituant la cohorte de l'étude.

Cas	Race	Âge	Type de pyomètre	ADN stocké dans la biobanque cani-DNA
Cas n°1	Berger de Beauce	12 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°2	Berger Allemand	8 ans	Col fermé	Oui
Cas n°3	Akita Inu	8 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°4	Terre Neuve	4 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°5	American Staffordshire	11 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°6	Staffordshire Terrier	7 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°7	Golden Retriever	7 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°8	Bichon	12 ans	Col fermé	Oui
Cas n°9	Staffordshire Terrier	14 ans	Col fermé	Oui
Cas n°10	Berger Australien	12 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°11	Yorkshire Terrier	10 ans	Col fermé	Oui
Cas n°12	Labrador X Berger	12 ans	Col fermé	Oui
Cas n°13	American Staffordshire	9 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°14	American Staffordshire	4 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°15	Yorkshire Terrier	11 ans	Col fermé	Oui
Cas n°16	American Staffordshire	9 ans	Col fermé	Oui
Cas n°17	Jack Russel terrier	11 ans	Col ouvert	Oui
Cas n°18	Pinscher Nain	10 ans	Col fermé	Oui
Cas n°19	Yorkshire Terrier	7 ans	Col ouvert	Oui

La biobanque Cani-DNA contient également de nombreux échantillons de chiennes âgées indemnes de pyomètre. Ces échantillons pourront servir de témoin dans les études génétiques comparatives.

#### **4. Discussion**

Au cours de cette étude, nous avons pu collecter les données cliniques et l'ADN de 19 chiennes de différentes races atteintes de pyomètre.

Cette cohorte pourra servir dans un premier temps à déterminer si le SNP mis en évidence comme étant associé au pyomètre chez le Golden Retriever est aussi dans les autres races. Cette cohorte permettra également de réaliser une étude génétique comparative lorsque plus de chiennes auront été incluses dans la cohorte (comparaison chiennes atteintes *versus* chiennes âgées indemnes de pyomètre).

Cette étude a permis l'établissement d'une cohorte. Ces échantillons sont mis à disposition pour la réalisation d'autres études. Il serait notamment envisageable de réaliser un séquençage de l'ensemble de la cohorte et de comparer ces séquences aux travaux d'Arendt et al. en 2021.

D'autre part, il serait possible de réaliser une étude cas-témoin sur des chiennes atteintes de pyomètre *versus* des chiennes saines. Cependant, avoir des groupes comparables notamment en termes de race n'est pas chose aisée. De plus, le pyomètre est une affection pouvant apparaître entre 1 an et 16 ans comme nous avons pu le voir. Dès lors, l'inclusion représente un véritable défi car il est difficile de savoir si des chiennes âgées allaient développer un pyomètre plus tard ou non. Ainsi il faudrait prendre des chiennes très âgées indemnes, si possible dans leur dernier quartile de vie.

# Conclusion

---

En conclusion, le pyomètre est une maladie comportant de nombreux facteurs de risque qu'ils soient anatomiques, épidémiologiques, liés à un traitement hormonal ou une prédisposition raciale.

L'étude d'Arendt et al. en 2021 s'est intéressée à une possible prédisposition génétique au sein de certaines races au pyomètre.

Le pyomètre est très vraisemblablement une maladie à caractère polygénique. Selon Arendt et al. il existe une association statistique entre le pyomètre et le gène *ABCC4*, mais d'autres facteurs génétiques rentrent probablement en jeu.

Le gène *ABCC4* code pour une protéine dénommée MRP4 dont le rôle établi est celui d'un multi-transporteur de molécules et notamment des molécules de l'inflammation ainsi que des prostaglandines. Les prostaglandines sont à l'origine d'une stimulation de la contractilité myométriale ainsi que d'un effet lutéotrope impliquant ainsi un arrêt de production de progestérone.

Une étude a mis en évidence qu'une dysfonction de ce transporteur serait à l'origine d'une diminution de la concentration extracellulaire en PGF2a. Aujourd'hui, aucune étude n'a permis d'établir un lien direct entre une dysfonction de ce transporteur et l'apparition d'un pyomètre. Cependant, il est vraisemblable de penser qu'une diminution des prostaglandines pourrait être à l'origine d'une accumulation de fluide et/ou d'imprégnation en progestérone, hormone clé dans la pathogénie du pyomètre.

Par ailleurs, cette même étude a mis en évidence que l'association de mutations à la fois sur le chromosome 22 (locus du gène *ABCC4*) ainsi que sur le gène 18 (locus du gène *TESMIN*) présente une meilleure corrélation. Ceci suggère alors le caractère polygénique de la maladie. Le gène *TESMIN* codant pour une protéine de même nom et dont la fonction est celle d'une métallothionéine est à l'origine de la spermatogénèse, du développement ovarien ainsi que de la fertilité. Chez l'humain, la protéine TESMIN intervient lors de stress et de blessure impliquant l'endomètre.

Malheureusement, aucune étude ne démontre formellement de lien direct avec le pyomètre. Dès lors, il serait intéressant de s'intéresser aux rôles de ces protéines chez nos carnivores de domestiques.

L'un des objectifs de cette thèse était d'étudier la présence d'une prédisposition raciale au sein d'une population vue en consultation en Ile-de-France. Dans un second temps, nous avons comparé les critères anamnestic-cliniques de ces animaux présentés au CHUV-AC avec ceux de la littérature.

Concernant la prédisposition raciale au pyomètre, on peut vraisemblablement penser qu'effectivement le Rottweiler appartiendrait aux races prédisposées. Concernant les autres races, il aurait fallu pondérer nos résultats avec la population présente en Ile-de-France afin de s'affranchir du biais de recrutement qui peut impacter nos résultats.

Le dernier objectif de notre étude était d'établir une cohorte multi-races. Ainsi 19 chiennes ont été recrutées. Leurs ADN sont mis à disposition de toute personne s'intéressant au pyomètre. Il



pourra également être possible de réaliser un séquençage génomique de l'ensemble de ces chiennes et de les comparer aux travaux d'Arendt et al.

# Liste des références bibliographiques

---

- ANDERSEN, S.U., ALGREEN-PETERSEN, R.G., HOEDL, M., *et al.* (2007) The conserved cysteine-rich domain of a tesmin/TSO1-like protein binds zinc in vitro and TSO1 is required for both male and female fertility in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* vol. 58, n° 13, p. 3657-3670. [<https://doi.org/10.1093/jxb/erm215>]
- ARENDT, M., AMBROSEN, A., FALL, T., *et al.* (2021) The *ABCC4* gene is associated with pyometra in golden retriever dogs. *Scientific Reports* vol. 11, n° 1, p. 16647. [<https://doi.org/10.1038/s41598-021-95936-1>]
- ATTARD, S., BUCCI, R., PARRILLO, S., *et al.* (2022) Effectiveness of a Modified Administration Protocol for the Medical Treatment of Feline Pyometra. *Veterinary Sciences* vol. 9, n° 10, p. 517. [<https://doi.org/10.3390/vetsci9100517>]
- BARRAU, M.D., ABEL, J.H., VERHAGE, H.G., *et al.* (1975) Development of the endometrium during the estrous cycle in the bitch. *The American Journal of Anatomy* vol. 142, n° 1, p. 47-65. [<https://doi.org/10.1002/aja.1001420105>]
- BERGSTRÖM, A. (2017) Chapitre 316, Pyometra and Cystic Endometrial Hyperplasia. In Ettinger S.J., Felman E.C., Côté E., *TextBook of Veterinary internal medicine*, 8ème éd. St. Louis, Missouri, Saunders, p. 4542-4552.
- BERGSTRÖM, S., DICZFALUSY, E., BORELL, U., *et al.* (1972) Prostaglandins in fertility control. *Science* vol. 175, n° 4027, p. 1280-1287. [<https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1280>]
- BERTHELOT, X. (2005) Physiologie de la reproduction des carnivores domestiques. Cours magistral. Enseignement de second cycle. Toulouse, Ecolé Vétérinaire de Toulouse. Unité pédagogique de reproduction.
- BIGLIARDI, E., PARMIGIANI, E., CAVIRANI, S., *et al.* (2004) Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 39, n° 3, p. 136-140. [<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x>]
- BLENDINGER, K., BOSTEDT, H. (1991) [The age and stage of estrus in bitches with pyometra. Statistical inquiry and interpretive study of the understanding of variability]. *Tierärztliche Praxis* vol. 19, n° 3, p. 307-310.
- BØRRESEN, B. (1979) Pyometra in the dog. II.--A pathophysiological investigation. II. Anamnestic, clinical and reproductive aspects. *Nordisk Veterinaermedicin* vol. 31, n° 6, p. 251-257.
- BOURGOIS, A. (2009) Le pyomètre chez la chienne : une urgence chirurgicale ou médicale ?, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.
- BUKOWSKA, D., KEMPISTY, B., ZAWIERUCHA, P., *et al.* (2014) Microarray analysis of inflammatory response-related gene expression in the uteri of dogs with pyometra. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents* vol. 28, n° 4, p. 637-648.
- COGGAN, J.A., MELVILLE, P.A., DE OLIVEIRA, C.M., *et al.* (2008) Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra. *Brazilian Journal of Microbiology* vol. 39, n° 3, p. 477-483. [<https://doi.org/10.1590/S1517-838220080003000012>]
- COOKE, P.S., SPENCER, T.E., BARTOL, F.F., *et al.* (2013) Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Molecular Human Reproduction* vol. 19, n° 9, p. 547-558. [<https://doi.org/10.1093/molehr/gat031>]
- CORRADA, Y., ARIAS, D., RODRÍGUEZ, R., *et al.* (2006) Combination dopamine agonist and prostaglandin agonist treatment of cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* vol. 66, n° 6-7, p. 1557-1559. [<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.004>]
- DE BOSSCHERE, H., DUCATELLE, R., VERMEIRSCH, H., *et al.* (2002) Estrogen-alpha and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproduction Science* vol. 70, n° 3-4, p. 251-259. [[https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00013-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00013-1)]

- DE BOSSCHERE, H., DUCATELLE, R., VERMEIRSCH, H., *et al.* (2001) Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? *Theriogenology* vol. 55, n° 7, p. 1509-1519. [[https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00498-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00498-8)]
- DERUSSI, A. a. P., DE SOUZA, R.W.A., VOLPATO, R., *et al.* (2012) Progesterone (PR), oestrogen (ER- $\alpha$  and ER- $\beta$ ) and oxytocin (OTR) gene expression in the oviduct and uterus of pregnant and non-pregnant bitches. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 47 Suppl 6, p. 197-199. [<https://doi.org/10.1111/rda.12015>]
- DORSEY, T.I., ROZANSKI, E.A., SHARP, C.R., *et al.* (2018) Evaluation of thromboelastography in bitches with pyometra. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* vol. 30, n° 1, p. 165-168. [<https://doi.org/10.1177/1040638717737349>]
- EGENVALL, A., HAGMAN, R., BONNETT, B.N., *et al.* (2001) Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 15, n° 6, p. 530-538. [[https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2001\)015<0530:bropii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2001)015<0530:bropii>2.3.co;2)]
- EL-SHEIKH, A.A.K., VAN DEN HEUVEL, J.J.M.W., KRIEGER, E., *et al.* (2008) Functional role of arginine 375 in transmembrane helix 6 of multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4). *Molecular Pharmacology* vol. 74, n° 4, p. 964-971. [<https://doi.org/10.1124/mol.107.043661>]
- FIENI, F., TOPIE, E., GOGNY, A. (2014) Medical treatment for pyometra in dogs. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 49 Suppl 2, p. 28-32. [<https://doi.org/10.1111/rda.12302>]
- FRANSSON, B., LAGERSTEDT, A.S., HELLMEN, E., *et al.* (1997) Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe A* vol. 44, n° 7, p. 417-426. [<https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1997.tb01127.x>]
- FRANSSON, B., RAGLE, C. (2003) Canine Pyometra: An Update on Pathogenesis and Treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* vol. 25, p. 602-612.
- FRANSSON, B.A., KARLSTAM, E., BERGSTROM, A., *et al.* (2004) C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* vol. 40, n° 5, p. 391-399. [<https://doi.org/10.5326/0400391>]
- GUHA, P., DAS, A., DUTTA, S., *et al.* (2018) A rapid and efficient DNA extraction protocol from fresh and frozen human blood samples. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* vol. 32, n° 1, p. e22181. [<https://doi.org/10.1002/jcla.22181>]
- GÜRBULAK, K., PANCARCI, M., EKICI, H., *et al.* (2005) Use of aglepristone and aglepristone + intrauterine antibiotic for the treatment of pyometra in bitches. *Acta Veterinaria Hungarica* vol. 53, n° 2, p. 249-255. [<https://doi.org/10.1556/AVet.53.2005.2.10>]
- HAGMAN, R. (2023) Pyometra in Small Animals 3.0. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* p. S0195- 5616(23)00071-2. [<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.04.009>]
- HAGMAN, R. (2022) Pyometra in Small Animals 2.0. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* vol. 52, n° 3, p. 631-657. [<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.01.004>]
- HAGMAN, R. (2018) Pyometra in Small Animals. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* vol. 48, n° 4, p. 639-661. [<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001>]
- HAGMAN, R. (2017) Molecular aspects of uterine diseases in dogs. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene* vol. 52 Suppl 3, p. 37-42. [<https://doi.org/10.1111/rda.13039>]
- HAGMAN, R. (2014) Diagnostic and prognostic markers for uterine diseases in dogs. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene* vol. 49 Suppl 2, p. 16-20. [<https://doi.org/10.1111/rda.12331>]
- HAGMAN, R. (2012) Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene* vol. 47 Suppl 6, p. 323-325. [<https://doi.org/10.1111/rda.12031>]
- HAGMAN, R., GREKO, C. (2005) Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. *The Veterinary Record* vol. 157, n° 7, p. 193-196. [<https://doi.org/10.1136/vr.157.7.193>]
- HAGMAN, R., KINDAHL, H., LAGERSTEDT, A.S. (2006) Pyometra in bitches induces elevated plasma endotoxin and prostaglandin F2alpha metabolite levels. *Acta Veterinaria Scandinavica* vol. 47, n° 1, p. 55-67. [<https://doi.org/10.1186/1751-0147-47-55>]

- HAGMAN, R., LAGERSTEDT, A.-S., HEDHAMMAR, Å., *et al.* (2011) A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology* vol. 75, n° 7, p. 1251-1257. [https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.038]
- HINDERER, J., LÜDEKE, J., RIEGE, L., *et al.* (2021) Progesterone Concentrations during Canine Pregnancy. *Animals* vol. 11, n° 12, p. 3369. [https://doi.org/10.3390/ani11123369]
- HO, L.L., KENCH, J.G., HANDELSMAN, D.J., *et al.* (2008) Androgen regulation of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in prostate cancer. *The Prostate* vol. 68, n° 13, p. 1421-1429. [https://doi.org/10.1002/pros.20809]
- HOWARD, E.E., DE LAHUNTA, A. (2013) The Urogenital system, Female Genital organs. In *Miller's Anatomy of the dog*, 4<sup>th</sup> edition St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier p. 386-394.
- JITPEAN, S., AMBROSEN, A., EMANUELSON, U., *et al.* (2017) Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra. *BMC Veterinary Research* vol. 13, n° 1, p. 11. [https://doi.org/10.1186/s12917-016-0924-0]
- JITPEAN, S., HAGMAN, R., STRÖM HOLST, B., *et al.* (2012) Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 47 Suppl 6, p. 347-350. [https://doi.org/10.1111/rda.12103]
- JITPEAN, S., PETERSSON, A., HÖGLUND, O.V., *et al.* (2014) Increased concentrations of Serum amyloid A in dogs with sepsis caused by pyometra. *BMC Veterinary Research* vol. 10, p. 273. [https://doi.org/10.1186/s12917-014-0273-9]
- KALMA, Y., GRANOT, I., GNAINSKY, Y., *et al.* (2009) Endometrial biopsy-induced gene modulation: first evidence for the expression of bladder-transmembranal uroplakin Ib in human endometrium. *Fertility and Sterility* vol. 91, n° 4, p. 1042-1049, 1049.e1-9. [https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.01.043]
- KREKELER, N., LODGE, K.M., ANDERSON, G.A., *et al.* (2012) Effect of simulated stages of the canine oestrous cycle on Escherichia coli binding to canine endometrium. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 47 Suppl 6, p. 331-334. [https://doi.org/10.1111/rda.12101]
- LAVIN, L.E., MAKI, L.C. (2023) Antimicrobial use in the surgical treatment of canine pyometra: A questionnaire survey of Arizona-licensed veterinarians. *Veterinary Medicine and Science* vol. 9, n° 3, p. 1124-1133. [https://doi.org/10.1002/vms3.1130]
- LIN, Z.P., ZHU, Y.-L., JOHNSON, D.R., *et al.* (2008) Disruption of cAMP and prostaglandin E2 transport by multidrug resistance protein 4 deficiency alters cAMP-mediated signaling and nociceptive response. *Molecular Pharmacology* vol. 73, n° 1, p. 243-251. [https://doi.org/10.1124/mol.107.039594]
- LIU, J.-L., WANG, T.-S., ZHAO, M. (2016) Genome-Wide Association Mapping for Female Infertility in Inbred Mice. *G3 (Bethesda, Md.)* vol. 6, n° 9, p. 2929-2935. [https://doi.org/10.1534/g3.116.031575]
- MARKOVA, S.M., KROETZ, D.L. (2014) ABCC4 is regulated by microRNA-124a and microRNA-506. *Biochemical Pharmacology* vol. 87, n° 3, p. 515-522. [https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.10.017]
- MATSUURA, T., KAWASAKI, Y., MIWA, K., *et al.* (2002) Germ cell-specific nucleocytoplasmic shuttling protein, tesmin, responsive to heavy metal stress in mouse testes. *Journal of Inorganic Biochemistry* vol. 88, n° 2, p. 183-191. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134(01)00377-4]
- MIR, F., FONTAINE, E. (2009) Test clinique des écoulements vulvaires persistant sur une chienne primipare (CERCA). *Le Nouveau Praticien Vétérinaire canine-feline. Vol 8/ n°41* p. 4.
- NISKANEN, M., THRUSFIELD, M.V. (1998) Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *The Veterinary Record* vol. 143, n° 18, p. 493-498. [https://doi.org/10.1136/vr.143.18.493]
- NUDELMANN, N. (2020) Pyomètre, Cours magistral de 3ème année. Maisons-Alfort, Ecole vétérinaire de Maisons-Alfort Unité Pédagogique de Chirurgie.
- OLESEN, C., MØLLER, M., BYSKOV, A.G. (2004) Tesmin transcription is regulated differently during male and female meiosis. *Molecular Reproduction and Development* vol. 67, n° 1, p. 116-126. [https://doi.org/10.1002/mrd.20007]
- POLLARD, R., HECHT, S. (2015) Chapitre 13, Female Reproductive Tract. In Penninck D., Anjour M.-A., *Atlas of Small Animal Ultrasonography*, 2<sup>nd</sup> ed. Hoboken, New Jersey, Willey-Blackwell, p. 415-419.

- PRAPAIWAN, N., MANEE-IN, S., OLANRATMANEE, E., *et al.* (2017) Expression of oxytocin, progesterone, and estrogen receptors in the reproductive tract of bitches with pyometra. *Theriogenology* vol. 89, p. 131-139. [<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.10.016>]
- RIUS, M., THON, W.F., KEPPLER, D., *et al.* (2005) Prostanoid transport by multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4) localized in tissues of the human urogenital tract. *The Journal of Urology* vol. 174, n° 6, p. 2409-2414. [<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000180411.03808.cb>]
- ROMAGNOLI, S., LOPATE, C. (2017) Chapitre 312 Reproductive Endocrinology and breeding husbandry of the bitch. In Ettinger S.J., Felman E.C., Côté E., *TextBook of veterinary internal medicine*, 8<sup>th</sup> ed. St. Louis, Missouri, Saunders, p. 4459-4491.
- RUSSEL, F.G.M., KOENDERINK, J.B., MASEREEUW, R. (2008) Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules. *Trends in Pharmacological Sciences* vol. 29, n° 4, p. 200-207. [<https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.01.006>]
- SANDHOLM, M., VASENIUS, H., KIVISTÖ, A.K. (1975) Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 167, n° 11, p. 1006-1010.
- SILVA, E., LEITÃO, S., FERREIRA-DIAS, G., *et al.* (2009) Prostaglandin synthesis genes are differentially transcribed in normal and pyometra endometria of bitches. *Reproduction in Domestic Animals* vol. 44 Suppl 2, p. 200-203. [<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01393.x>]
- SILVA, E., LEITÃO, S., HENRIQUES, S., *et al.* (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* vol. 84, n° 1, p. 66-74. [<https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.10.004>]
- STANLEY, S.E., GABLE, D.L., WAGNER, C.L., *et al.* (2016) Loss-of-function mutations in the RNA biogenesis factor NAF1 predispose to pulmonary fibrosis-emphysema. *Science Translational Medicine* vol. 8, n° 351, p. 351ra107. [<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf7837>]
- SUGIHARA, T., WADHWA, R., KAUL, S.C., *et al.* (1999) A novel testis-specific metallothionein-like protein, tesmin, is an early marker of male germ cell differentiation. *Genomics* vol. 57, n° 1, p. 130-136. [<https://doi.org/10.1006/geno.1999.5756>]
- SUTOU, S., MIWA, K., MATSUURA, T., *et al.* (2003) Native tesmin is a 60-kilodalton protein that undergoes dynamic changes in its localization during spermatogenesis in mice. *Biology of Reproduction* vol. 68, n° 5, p. 1861-1869. [<https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.005603>]
- TAMADA, H., KAWATA, N., KAWATE, N., *et al.* (2012) Factors associated with patency of the uterine cervix in bitches with pyometra. *Research in Veterinary Science* vol. 93, n° 3, p. 1203-1210. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.05.012>]
- TIRET, L. (2019) Cycle Sexuel de la chienne et de la chatte. Travaux Dirigés. Enseignement de 2<sup>ème</sup> année. Maisons-Alfort, Ecole vétérinaire de Maisons-Alfort, Unité Pédagogique : connaissance et maîtrise de la reproduction.
- TRASCH, K., WEHREND, A., BOSTEDT, H. (2003) Follow-up examinations of bitches after conservative treatment of pyometra with the antigestagen aglepristone. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* vol. 50, n° 7, p. 375-379. [<https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2003.00557.x>]
- TSUMAGARI, S., ISHINAZAKA, T., KAMATA, H., *et al.* (2005) Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. *Animal Reproduction Science* vol. 87, n° 3-4, p. 301-308. [<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.11.006>]
- VON BERKY, A.G., TOWNSEND, W.L. (1993) The relationship between the prevalence of uterine lesions and the use of medroxyprogesterone acetate for canine population control. *Australian Veterinary Journal* vol. 70, n° 7, p. 249-250. [<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb08041.x>]
- WANG, T.Y., WANG, L., ZHANG, J.H., *et al.* (2011) A simplified universal genomic DNA extraction protocol suitable for PCR. *Genetics and Molecular Research* vol. 10, n° 1, p. 519-525. [<https://doi.org/10.4238/vol10-1gmr1055>]
- WIJEWARDANA, V., SUGIURA, K., WIJESEKERA, D.P.H., *et al.* (2015) Effect of ovarian hormones on maturation of dendritic cells from peripheral blood monocytes in dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 77, n° 7, p. 771-775. [<https://doi.org/10.1292/jvms.14-0558>]

ZHR, A., ALCAIDE, P., YANG, J., *et al.* (2016) Endomucin prevents leukocyte-endothelial cell adhesion and has a critical role under resting and inflammatory conditions. *Nature Communications* vol. 7, p. 10363. [<https://doi.org/10.1038/ncomms10363>]



# Annexe 1

Compound	K <sub>m</sub> (μM)	Refs
<b>Endogenous</b>		
<i>Cyclic and ADP nucleotides</i>		
cGMP	10, 180 <sup>a</sup>	[11,18]
cAMP	45	[18]
ADP	ND	[25]
<i>Purine analogues</i>		
Urate	1500 <sup>a</sup>	[11]
<i>Eicosanoids</i>		
PGE <sub>1</sub>	2.1	[58]
PGE <sub>2</sub>	3.4, 3.5	[58]
PGF <sub>2α</sub>	12.6	[30]
TXB <sub>2</sub>	9.9	[30]
LTB <sub>4</sub> <sup>a</sup>	5.2–5.6	[15]
LTC <sub>4</sub>	0.1–0.3	[15]
<i>Folates</i>		
Folic acid	170	[8]
<i>Bile acids</i>		
Taurocholate <sup>b</sup>	8.5	[9]
Cholate <sup>b</sup>	14.8	[14]
Cholyglycine <sup>b</sup>	25.8	[14]
Cholytaurine <sup>b</sup>	7.7	[14]
Deoxycholyglycine <sup>b</sup>	6.7	[14]
Chenodeoxycholyglycine <sup>b</sup>	5.9	[14]
Chenodeoxycholytaurine <sup>b</sup>	3.6	[14]
Ursodeoxycholyglycine <sup>b</sup>	12.5	[14]
Ursodeoxycholytaurine <sup>b</sup>	7.8	[14]
<i>Conjugated steroids</i>		
DHEAS	2	[7]
E <sub>2</sub> 17βG	30	[18]
<b>Drugs</b>		
Methotrexate	220 1300	[21]
Leucovorin	640	[8]
Topotecan	ND	[32]
Adefovir	>1000	[38]
Tenofovir	>1000	[57]
Ceftizoxime	18	[36]
Cefazolin	80	[36]
Cefotaxime	ND	[36]
Cefmetazole	28	[59]
Hydrochlorothiazide	ND	[37]
Furosemide	ND	[37]
Olmesartan	26	[54]
Edaravone glucuronide	9.8	[60]
PAH	160	[61]
<b>Inhibitors</b>		
	<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	
Dipyridamole	<1–12	[11,62]
Sildenafil	20	[62]
MK571	2–10	[9,21,62]
AEBSF	~750	[16]
Indomethacin	5–22	[13,25,58]
Sulindac	2	[13]
Losartan	10	[26]
Quercetin	1	[63]
Celecoxib <sup>c</sup>	35	[13]
Probenecid <sup>c</sup>	100	[9,21]



## Annexe 2

---



# Protocole de prélèvement - pyomètre

- ✓ Remplir la feuille de consentement éclairé.
- ✓ Après confirmation par chirurgie, en fonction du gabarit du chien, prélever 3 à 5 mL de sang sur un tube **EDTA**.
- ✓ Etiqueter le tube avec le nom de l'animal et des propriétaires et écrire "pyomètre".
- ✓ Placer l'échantillon au frigo (salle des prélèvements) dans le carton nommé Biobanque.

Au besoin ne pas hésiter à me  
contacter par mail ou téléphone !  
Axel

Merci beaucoup !

axel.croizonevet-alfort.fr

# Annexe 3



## Consentement éclairé

Le but de cette thèse est de récolter du sang sur des chiennes atteintes de pyomètre (infection de l'utérus) afin de déterminer une prédisposition génétique quant à son apparition. Par ailleurs, cette thèse vise également à mettre en évidence ou non une prédisposition raciale.

J'autorise la clinique ..... à prélever du sang sur mon animal ..... . Une extraction d'ADN sera réalisée afin de créer une banque de données pour mieux comprendre la maladie.

Nom du propriétaire : .....

Nom de l'animal : .....

Age : .....

Numéro de Puce: .....

Antécédents médicaux :.....

Date :

Signature

# Annexe 4

---

Matériels nécessaires :

- ❖ Appareil Maxwell®, Promega
- ❖ Kit extraction Maxwell 16 Blood DNA purification kit Promega
- ❖ 500 à 700 µl de sang total ou d'anneau leucocytaire

Mode opératoire :

L'ensemble de la manipulation impose de porter des gants et une blouse pour se protéger des solutions de digestion contenant du guanidium.

Le mode opératoire est le suivant :

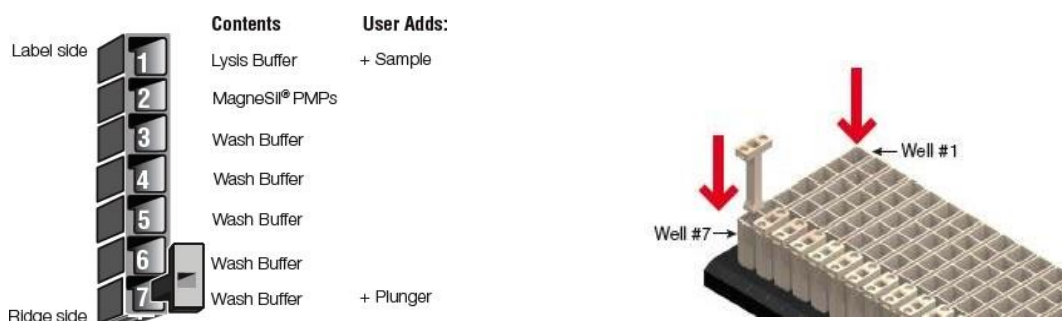
1- Préparer les échantillons :

Suspendre de nouveau les prélèvements de sang à l'aide d'une pipette P1000.

2- Préparer le rack contenant autant de cartouches que d'échantillons à traiter.

3- Enlever le film métallique qui obture les cartouches (vérifier qu'il ne reste pas de film plastique).

4- Positionner les échantillons, 500 µl à 750 µl maxi de sang dans l'alvéole n°1, le broyeur en position 7.



Les cartouches doivent être réparties sur la largeur si le nombre d'échantillon est inférieur à 16.

5- Vérifications des réglages de l'automate.

6- Démarrage du cycle d'extraction.

7- Transférer les cassettes sur le plateau.

8- Ajouter une cuvette de couleur bleue (élution) dans le réceptacle avant pour chaque échantillon et y ajouter 500 µL de tampon d'élution.

9- Presser le bouton « Run » ; le plateau se rétracte dans la machine ; fermer la porte et le cycle d'extraction démarre automatiquement pour une durée de 1 h 25 min.



10- Préparer un jeu de tube Eppendorf pour récupérer l'ADN en solution.

11- A la fin du processus, la machine bipé 2 fois. Il est souhaitable d'ouvrir la porte et de récupérer les cuvettes contenant l'ADN élué rapidement.

Le cycle d'extraction comprend des temps de chauffe et l'atmosphère de l'enceinte peut provoquer une importante évaporation.

12- Ouvrir la porte et vérifier que les Plungers ne sont pas restés accrochés aux tiges métalliques. Si le tiroir est sorti alors qu'ils sont encore sur les tiges, il y a risque d'endommagement de la machine.

13- Presser « Run » pour faire sortir le plateau

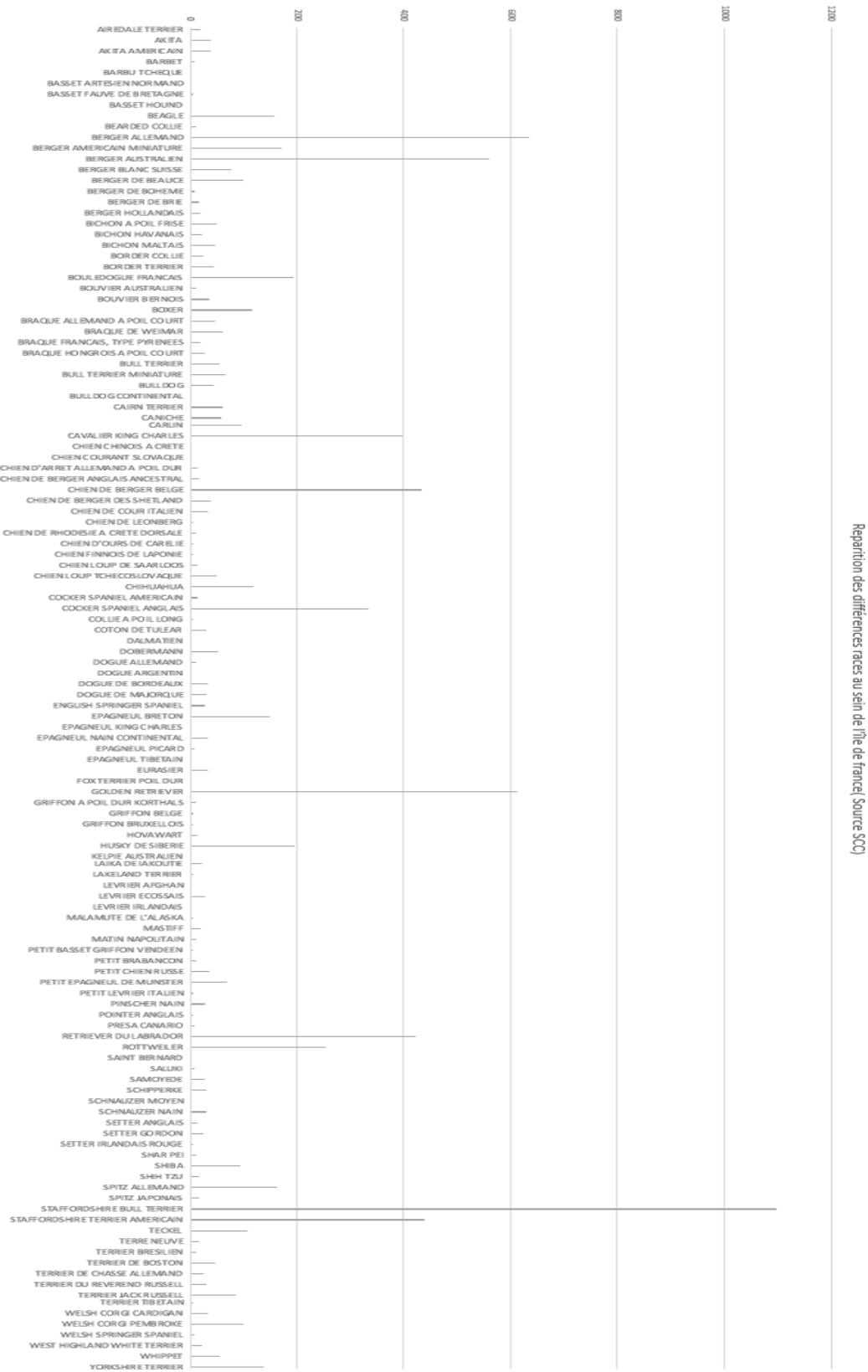
14- Récupérer les tubes d'élution et les poser sur le Rack magnétique (cela permet de capturer les billes résiduelles).

15- Poser le Rack incliné pour capturer les billes sur un bord de la cuvette.

16- Pencher le Rack dans le sens opposé et transférer l'ADN en solution, environ 300  $\mu$ L, dans un Eppendorf.

17- Jeter les cuvettes bleues et les Rack dans la poubelle DASRI.

# Annexe 5



# DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DU PYOMÈTRE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTABLISSEMENT D'UNE COHORTE MULTI-RACES

---

**AUTEUR : CROIZON Axel**

## **RÉSUMÉ :**

Le pyomètre est une maladie comportant de nombreux facteurs de risque qu'ils soient anatomiques, épidémiologiques, liés à un traitement hormonal ou à une prédisposition raciale.

Une étude en 2021 publiée par Arendt et al. a permis de mettre en évidence une possible prédisposition génétique chez le Golden Retriever.

Le pyomètre est vraisemblablement une maladie à caractère polygénique. Selon Arendt et al. il existe une association statistique entre le pyomètre et le gène *ABCC4*, mais d'autres facteurs génétiques rentrent probablement également en jeu. Le gène *ABCC4* code pour une protéine dénommée MRP4 dont le rôle établi est celui d'un multitransporteur de molécules et notamment des molécules de l'inflammation ainsi que des prostaglandines.

Notre objectif était d'étudier l'existence d'une prédisposition raciale au sein du pyomètre parmi une population de chiennes vues au CHUV-AC de l'EnvA. Pour cela, une étude rétrospective sur l'ensemble des cas de pyomètres présentés au CHUV-AC de l'ENVA entre 2002 et 2022 a été réalisée.

L'étude rétrospective a permis de montrer que certaines races étaient surreprésentées parmi les chiennes présentées aux CHUV-AC de l'ENVA pour un pyomètre. Parmi celles-ci, on compte le Rottweiler, le Yorkshire terrier, le Labrador, le Caniche, le Golden retriever, le Berger allemand, l'American Staffordshire terrier, le Westie, le Cavalier King Charles ainsi que le Bichon, le Bull Terrier et le Bouledogue anglais. Toutefois, ces résultats peuvent être biaisés par une surreprésentation de certaines races en Île-de-France.

L'un des objectifs de cette thèse était d'établir une cohorte multi-races de chiennes atteintes de pyomètre afin de créer une banque d'ADN et ainsi de réaliser des études génétiques comparatives futures.

Une cohorte multi-races de 19 chiennes atteintes de pyomètre a été constituée et l'ADN de ces chiennes a été extrait et est conservé au sein de la biobanque nationale cani-DNA.

## **MOTS CLÉS :**

PYOMÈTRE, UTÉRUS, AFFECTION, CHIENNE, FACTEURS DE RISQUE, DETERMINISME GÉNÉTIQUE ADN, ETUDE RETROSPECTIVE, COHORTE,

## **JURY :**

Président : Pr Grégory Jouvion

Directrice de thèse : Dr Lucie Chevallier

Examineur : Pr Alain Fontbonne

# GENETIC DETERMINATION OF PYOMETRA : LITERATURE REVIEW AND ESTABLISHMENT OF A MULTI-BREED COHORT

---

**AUTHOR: CROIZON Axel**

## **SUMMARY:**

Pyometra is a disease with numerous risk factors, whether anatomical, epidemiological, linked to hormonal treatment or racial predisposition.

A study published in 2021 by Arendt et al. highlighted a possible genetic predisposition in Golden Retrievers.

Pyometra is probably a polygenic disease. According to Arendt et al., there is a statistical association between pyometra and the ABCC4 gene, but other genetic factors are probably also involved. The ABCC4 gene codes for a protein called MRP4, whose established role is that of a multitransporter of molecules, notably inflammation molecules and prostaglandins.

Our aim was to study the existence of a racial predisposition to pyometra in a population of bitches seen at the CHUV-AC of EnvA. To this end, a retrospective study of all cases of pyometra presented to the ENVA's CHUV-AC between 2002 and 2022 was carried out.

The retrospective study showed that certain breeds were over-represented among the bitches presented to ENVA's CHUV-AC for pyometra. These include the Rottweiler, Yorkshire terrier, Labrador, Poodle, Golden retriever, German shepherd, American Staffordshire terrier, Westie, Cavalier King Charles, as well as the Bichon, Bull Terrier and English bulldog. However, these results may be skewed by the over-representation of certain breeds in the Paris region.

One of the aims of this thesis was to establish a multi-breed cohort of bitches with pyometra in order to create a DNA bank for future comparative genetic studies.

A multi-breed cohort of 19 bitches with pyometra was set up, and their DNA was extracted and stored in the national biobank cani-DNA.

## **KEYWORDS:**

PYOMETRA, UTERUS, DISEASE, BITCH, RISK FACTORS, DNA GENETIC DETERMINISM, RETROSPECTIVE STUDY, COHORT

## **JURY:**

Chairperson : Pr Grégory Jouvion

Thesis Director : Dr Lucie Chevallier

Reviewer : Pr Alain Fontbonne