

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN – TIARET

معهد علوم البيطرة

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

قسم الصحة الحيوانية

DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire.**

**Présenté par :** Dahmani Ahmed Merwan

Rahmani Boulanouar

***Thème***

**Identification des souches bactériennes dans le tractus génitale  
chez la vache**

**Soutenu le 26 / 06 / 2024**

**Jury: Grade**

**Président :** Mr. Nasreddine Larbi Smail : MCB

**Encadrant:** Mr. Adnane Mounir: MCA

**Co-encadrant :** Mr. Adnane: MCA

**Examineur:** Pr. Abdelhadi Si Ameur : Pr

**Année universitaire 2023-2024**

## *Remerciements :*

---

*Tout d'abord nous tenons à remercier «ALLAH » le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force de mener à bien ce modeste travail.*

*On tient à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à Mr. Adnane Mounir pour avoir proposé ce sujet si intéressant ainsi que pour son encadrement, son orientation, son aide et ses conseils.*

*On remercie les membres du jury Mr. Smail, Pr Abdelhadi d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail, nous vous en sommes très Reconnaisantes.*

*Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Dédicaces :*

---

*Je dédie ce modeste travail de fin d'étude :*

*A mes très chers parents, A ceux que j'aime le plus au monde pour leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments*

*pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne pourrai les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

*Ma chère mère qui m'a tant soutenue avec ses prières et qui m'a toujours encouragée.*

*Mon cher Père, pour son soutien durant toute la période de mes études.*

*A mes frères et sœurs ; A ma famille; A tous mes amis qui ont rendu ma vie agréable et pleine de Bons souvenirs.*

*En fin je dédie ce modeste travail à ma promotion Docteur vétérinaire 2023/2024*

## **Listes des abréviations :**

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique

**ARNt** : Acide ribonucléique de transfert

**BHV** : Bovine herpes virus

**CBPP** : Pleuropneumonie contagieuse bovine

**CCU** : Colour changing units

**Cellules NK** : Cellules Natural Killer

**CFU** : Color forming unit

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DGGE** : Électrophorèse sur Gel en Gradient Dénaturant

**ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay

**EPS** : Exopolysaccharide

**FIV** : Fécondation In Vitro

**G+C** : Guanine+Cytosine

**GAPDH** : glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase

**GlpO** : L- $\alpha$ -glycérophosphate oxydase

**IBR** : Rhinotrachéite infectieuse bovine

**IFN** : Interféron

**Ig** : Immunoglobuline

**IL** : Interleukine

**LAMP** : Loop mediated isothermal amplification

**LBA** : Lavage broncho-alvéolaire

**Lpp** : Lipoprotéine16

**LPS** : Lipopolysaccharide

**MABs** : Anticorps monoclonaux

**MALDI-TOF** : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight

**MF-dot** : dot immunobinding on membrane filtration

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**PHA** : Phytohémagglutinine

**PCR** : Réaction en chaîne par polymérase

**PGF** : Prostaglandine

**RFLP** : Restriction fragment length polymorphism

**SAMH** : Systèmes antigéniques membranaires hypervariables

**SDS-PAGE** : Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

**SNP** : Single nucleotide polymorphism

**UV** : Ultra Violet

**Vsp** : Variable surface lipoprotein

**IA** : Insémination artificielle

**AMOVA** : Analyse de la variance moléculaire

**E2** : Estradiol-17 $\beta$

**ET** : Épaisseur de l'endomètre

**FSH** : Hormone folliculaire stimulante

**PIB** : Produit intérieur brut

**GnRH** : Hormone de libération des gonadotrophines

**LAB** : Bactéries lactiques

**LEfSe** : Taille de l'effet de l'analyse discriminante linéaire

**LH** : Hormone lutéinisante

**NGS** : Séquençage de nouvelle génération

**P4** : Progestérone

**PCoA** : Analyse des coordonnées principales

**PG** : Prostaglandine

**PGF-2 $\alpha$**  Prostaglandine F2 Alpha

**SARA** : Acidose ruminale subaiguë

## **Résumé :**

L'identification des souches bactériennes dans l'appareil génital des vaches est cruciale pour la santé et la reproduction du bétail. D'après l'étude ce qu'on a fait sur ce sujet, Nous pourrions résumer en ces principales volets qui explique l'identification des souches bactériennes de tractus génital de vache :

### **1. Contexte :**

Les infections génitales chez les vaches peuvent entraîner des pertes économiques importantes pour les éleveurs, en raison de la baisse de la fertilité et de la productivité laitière.

### **2. Techniques d'identification :**

**Culture bactérienne :** Méthode traditionnelle pour isoler et identifier les bactéries présentes dans les échantillons vaginaux ou utérins.

**PCR (Polymerase Chain Reaction) :** Utilisée pour détecter spécifiquement des espèces bactériennes ou leurs gènes associés à la pathogénicité.

**Séquençage de l'ADN :** Permet une identification précise des espèces bactériennes et de leurs variants génétiques.

### **3. Principales souches bactériennes impliquées :**

**Escherichia coli :** Souvent associé aux infections utérines post-partum (métrite).

**Trueperella pyogenes :** Impliqué dans les infections utérines et les abcès génitaux. **Streptococcus spp. :** Peut causer des infections utérines et des métrites.

### **4. Impact sur la santé reproductive :**

Les infections génitales peuvent entraîner des avortements, des retards de conception et une augmentation des intervalles entre les vêlages. Elles augmentent également le risque de contamination des veaux à la naissance, affectant leur santé.

### **5. Gestion et prévention :**

**Surveillance régulière :** Essentielle pour détecter précocement les infections et les traiter efficacement.

**Hygiène et pratique de gestion :** Maintien de bonnes conditions d'hygiène dans les installations de vêlage et de reproduction.

**Utilisation appropriée d'antibiotiques :** Basée sur les résultats des tests d'identification bactérienne pour une thérapie ciblée.

En résumé, l'identification précise des souches bactériennes dans l'appareil génital des vaches est essentielle pour la mise en œuvre de stratégies efficaces de gestion et de traitement visant à minimiser l'impact des infections sur la santé et la reproduction du bétail laitier et de boucherie.

## **Summary :**

Identifying bacterial strains in the reproductive tract of cows is crucial for livestock health and reproduction. According to the study what we have done on this subject, We could summarize in these main aspects which explains the identification of bacterial strains from the cow's genital tract:

### **1. Context:**

Genital infections in cows can cause significant economic losses for farmers, due to reduced fertility and milk productivity.

### **2. Identification techniques:**

**Bacterial culture:** Traditional method for isolating and identifying bacteria present in vaginal or uterine samples.

**PCR (Polymerase Chain Reaction):** Used to specifically detect bacterial species or their genes associated with pathogenicity.

**DNA Sequencing:** Allows precise identification of bacterial species and their genetic variants.

### **3. Main bacterial strains involved:**

**Escherichia coli:** Often associated with postpartum uterine infections (metritis).

**Trueperella pyogenes:** Involved in uterine infections and genital abscesses.

**Streptococcus spp. :** May cause uterine infections and metritis.

### **4. Impact on reproductive health:**

Genital infections can lead to abortions, delayed conception and increased calving intervals. They also increase the risk of contamination of calves at birth, affecting their health.

### **5. Management and prevention:**

**Regular monitoring:** Essential for detecting infections early and treating them effectively.

**Hygiene and management practice:** Maintaining good hygienic conditions in calving and breeding facilities.

**Appropriate use of antibiotics:** Based on results of bacterial identification tests for targeted therapy.

In summary, accurate identification of bacterial strains in the reproductive tract of cows is essential for the implementation of effective management and treatment strategies aimed at minimizing the impact of infections on the health and reproduction of dairy cattle and butchery.

## Sommaire :

Rmerciements : .....	1
Dédicaces : .....	3
Listes des abréviations : .....	4
Résumé.....	6
Introduction : .....	14
<i>Chapitre 1</i> : .....	1
<i>Rappels anatomophysiologique de l'appareil génital de la vache</i> .....	1
1-Rappelles anatomique de l'appareil génitale de la vache.....	2
1.1. Le col utérin ou cervix : .....	2
1.2. Le corps utérin: .....	2
1.3. Les cornes utérines: .....	2
1.4 L'ovaire: .....	2
1.5. Les follicules: .....	3
1.6. Le corps jaune: .....	3
15.1. Corps jaune hémorragique : .....	4
1.5.2. Corps jaune atrétiq (corpus albicans): .....	5
1.5.3. Corps jaune persistant : .....	5
1.5.4. Corps jaune cavitaire : .....	5
1.6. Les kystes ovariens : .....	5
2-physiologie de l'appareil génitale de la vache: .....	6
2.1. Pro æstrus : .....	6
2.2. Oestrus : .....	6
2. 3. La phase lutéale.....	7
2.4. Méta œstrus: .....	7
2. 5. Dicestus: .....	7
2.6.1. Follicule Primordial: .....	7
2.6.2. Follicules Primaires: .....	7
2.6.3. Follicule secondaire: .....	7
2. 6. 4. Follicule tertiaire (cavitaire): .....	8
2.6.5. Follicule mûr De Graaf .....	8
2.7. La régulation hormonale du cycle oestral de la vache : .....	9
2.7.1 Les Estrogènes : .....	9

2.7.2 La Progestérone:.....	9
L'inhibine.....	9
La PGF2a.....	9
Chapitre 2:.....	10
les Bactéries présentes dans l'appareil reproducteur de la vache .....	10
1-Principales bactéries présentes dans le tractus génitales de la vache :.....	11
1.1. Les mollicutes :.....	11
1.2. Les leptospires :.....	13
2. Agents pathogènes très probablement associés à la métrite et à l'échec de la reproduction :....	17
Chapitre 3:.....	19
Impact des bactéries de tractus génital sur la fonction reproductive de la vache .....	19
1. L'examen bactériologique de l'utérus :.....	20
1.1 Méthode d'examen vaginal .....	20
1.2. Ecouvillon utérin .....	20
1.3. Biopsie utérine .....	20
1.4. Culture au laboratoire .....	20
2. Intérêt diagnostique de l'examen bactériologique .....	21
3. Échec de la reproduction chez les vaches .....	21
4. Microbiote vaginal et utérin lié à la maladie chez les vaches en gestation et en post-partum ...	22
5. Agents Pathogènes les plus susceptibles d'être associés à la métrite et à l'échec de la reproduction.....	26
<i>Chapitre 4: .....</i>	<i>28</i>
<i>Evolution de la recherche sur le microbiote et ses méthodes.....</i>	<i>28</i>
1. L'évolution de la recherche sur le microbiote.....	29
1. 1. Méthodes basées sur la culture.....	29
1. 2. La réaction en chaîne par polymérase (PCR).....	30
1. 3. Séquençage de nouvelle génération (NGS).....	31
1. 4. Séquençage de l'ARNr 4.16S .....	32
<i>Chapitre 5: .....</i>	<i>34</i>
<i>Notions sur le microbiome génital.....</i>	<i>34</i>
1. Définition du microbiome génital .....	35
2. Population microbienne du tractus génital.....	35
3. Intérêt du microbiome génital .....	35
4. Les sources possibles de microbiomes génitaux chez les animaux.....	36

5. L'évolution de la flore bactérienne dans le tractus génital des animaux.....	37
6. La dynamique de microbiome de tractus génital .....	38
6.1. Le dogme classique .....	38
6.2. Les espèces bactériennes du tractus génital .....	39
7. Diversité du microbiote génital.....	39
7.1. Vagin .....	39
7.2. Utérus .....	40
8. Les facteurs affectant la diversité du microbiome génital .....	40
8.1. Facteurs intrinsèques .....	41
8. 2. Facteurs extrinsèques.....	45
<i>Chapitre 6:</i> .....	48
Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal.....	48
1. Intervention et supplémentation.....	49
1. 1. Probiotiques.....	49
1. 2. prébiotiques .....	52
1. 3. Antibiotiques .....	53
<i>Conclusion</i> .....	59
Référence Bibliographique :.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Annexes.....	1

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> : Image d'un corps jaune hémorragique (DERIVAUX et JOARLETTE).....	4
<b>Figure 2</b> : image d'un corps jaune cavitaire (DERIVAUX ET JOARLETTE). ....	5
<b>Figure 3</b> : Image d'un kyste ovarien (CHRISTIAN HANZAN). ....	6
Figure 4 : La classe des Mollicutes (en rouge, les espèces retrouvées chez les bovins) .....	11
<b>Figure 5</b> : espèces de leptospires associées à un sérotype, d'après Levett (2001) .....	14
<b>Figure 6</b> : Origine du microbiote génital et facteurs pouvant affecter l'abondance et la diversité de la population microbienne (Adnane, M. & Chapwanya; 2022). ....	37
<b>Figure 7</b> : Mécanismes de la résistance aux antibiotiques de BL : (Sharma et al., 2017). ....	55
<b>Figure 8</b> : Mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les BL Sharma et al., (2014) et de Von Wintersdorff et al., (2016). ....	58

## **Liste de tableaux :**

**Tableau 1** : espèces de leptospires associées à un sérotype, d'après Levett (2001).....14



# *Introduction*

## **Introduction :**

L'identification des souches bactériennes dans le tractus génital des vaches revêt une importance cruciale dans le domaine de la santé animale et de la production laitière. Ce processus permet de détecter et de caractériser les microorganismes présents dans cet environnement complexe, ce qui aide les éleveurs et les vétérinaires à prévenir, diagnostiquer et traiter les infections utérines et autres affections du système reproducteur bovin.

La méthode traditionnelle d'identification des souches bactériennes implique la culture des échantillons prélevés sur des milieux de culture spécifiques, suivie de l'observation des colonies bactériennes et de tests biochimiques pour déterminer leur identité. Cependant, cette approche peut être longue et laborieuse, et certains microorganismes peuvent être difficiles à cultiver ou à identifier de cette manière.

De nos jours, les techniques de biologie moléculaire, telles que la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) et le séquençage génétique, offrent des alternatives rapides et précises pour l'identification des souches bactériennes. Ces méthodes permettent de détecter et de caractériser les bactéries présentes dans les échantillons de manière spécifique et sensible, souvent sans nécessiter de culture préalable.

L'identification des souches bactériennes dans le tractus génital des vaches aide à comprendre la composition de la microflore normale de cet environnement ainsi que les agents pathogènes potentiels qui peuvent causer des maladies. Cela permet aux éleveurs de mettre en place des mesures préventives efficaces, telles que des programmes de gestion sanitaire et des protocoles de traitement ciblés, pour maintenir la santé reproductive des vaches et optimiser leur productivité. En outre, cela contribue à réduire l'utilisation d'antibiotiques et à prévenir l'émergence de résistances bactériennes, ce qui est essentiel pour la durabilité à long terme de l'élevage bovin.

A partir de notre étude, on va essayer de préciser :

- Les principales bactéries présentes dans le tractus génital de la vache
- l'importance de l'identification des bactéries dans la gestion de production et reproduction dans les élevages bovins ainsi que la prévention des maladies qui peut toucher l'appareil génital de la vache.
- Le microbiome génital et son rôle biologique dans le domaine vétérinaire

Cette thèse étudiera donc l'identification des différentes bactéries présentes dans l'appareil reproducteur de la vache et ses interactions. Des rappels anatomiques et physiologiques sur l'appareil génital de la vache seront développés en premier lieu, suivi par la citation des différentes espèces bactériennes qui l'on peut trouver dans le tractus génital de la vache. Puis, nous aborderons l'impact de ses bactéries sur la fonction reproductive de la vache. Ensuite, nous analyserons les différentes méthodes qui identifient le microbiote. Ainsi que des notions sur le microbiome génital seront discutées. En dernier lieu, nous examinerons les facteurs affectant la diversité de ce dernier, nous terminerons par les différentes stratégies de manipulation de microbiote et leur impact sur le microbiote vaginal.

## *Chapitre 1 :*

# *Rappels anatomophysiologique de l'appareil génital de la vache*

## **1-Rappelles anatomique de l'appareil génitale de la vache**

### **1.1. Le col utérin ou cervix :**

Le cervix est peu discernable en surface sur une pièce anatomique. Il est beaucoup plus long (10 cm) que le corps utérin (CHRISTIAN HANZEN). Il présente la particularité chez la vache d'être fibreux et de comporter une structure interne dite en fleurs épanouies qui en rend la cathétérisation (passage au moyen d'une sonde ou d'un pistolet d'insémination) difficile.

**1.2. Le corps utérin:** est court chez la vache (3 cm).

### **1.3. Les cornes utérines:**

D'une longueur de 35 à 45 cm, elles se rétrécissent progressivement en direction des oviductes auxquels elles se raccordent sous la forme d'une inflexion en S. Elles ont en effet un diamètre de 3 à 4 cm à leurs bases et de 5 à 6 mm à leurs extrémités. Incurvées en spirale, leurs apex sont très divergents et situés latéralement à peu près dans l'axe de la spirale. Cette disposition positionne les ovaires à hauteur du col de l'utérus. Leur bord mésométrial (petite courbure) est concave et situé ventralement chez les ruminants (CHRISTIAN HANZEN).

Leur bord libre ou grande courbure est convexe et situé à l'opposé du précédent. Les deux cornes sont unies à leur base par deux ligaments intercornaux l'un ventral et l'autre dorsal plus court que le précédent.

L'utérus est principalement irrigué premièrement par l'artère utérine qui prend naissance au début de l'artère iliaque interne et deuxièmement par un rameau utérin de l'artère vaginale, dérivée comme l'artère honteuse interne plus postérieure de l'artère iliaque interne.

L'endomètre est gris rougeâtre et présente le plus souvent quatre rangées longitudinales de caroncules, plus saillantes si la femelle a été gestante, dépourvues de glandes, arrondies ou ovalaires légèrement déprimées en leur centre chez les vaches, dont le volume augmente de manière considérable pendant la gestation pour former avec le cotylédon fœtal un placentome.

### **1.4 L'ovaire:**

Les dimensions de l'ovaire varient en fonction du développement de ses structures fonctionnelles. En moyenne, sa longueur est de 35 à 40 mm, sa largeur de 20 à 25 mm et son épaisseur comprise entre 15 et 20 mm. Il a une forme aplatie, ovoïde en forme d'amande. Son poids de 1 à 2 g à la naissance est

de 4 à 6 g à la puberté et d'une quinzaine de g chez l'adulte (10 à 20 g). En général l'ovaire droit est 2 à 3 g plus lourd que l'ovaire gauche.

L'ovaire comporte un bord libre et un bord sur lequel se fixe le mésovarium, zone du hile recevant une importante vascularisation qu'il conviendra lors d'un examen. échographique de ne pas confondre avec les follicules ovariens. L'ovaire comporte une zone vasculaire centrale (medulla) et une zone parenchymateuse périphérique (cortex).

La bourse ovarique est délimitée par le mésovarium d'une part, élément de suspension de l'ovaire et par le mésosalpinx fixant l'oviducte à proximité de l'ovaire.

L'irrigation de l'ovaire est assurée par l'artère ovarique issue de la partie caudale de l'aorte abdominale. Elle délègue avant d'atteindre l'ovaire une petite branche utérine. Au terme de nombreuses ramifications, elle atteint le hile de l'ovaire au travers du mésovarium. On précisera la coexistence étroite entre la veine utérine d'une part et l'artère ovarique d'autre part. Ce plexus est directement impliqué dans la régulation du cycle, la prostaglandine F2alpha passant chez la vache directement de la veine utérine dans l'artère ovarienne. Ce mécanisme dit de contrecourant n'est pas spécifique à l'ovaire; L'ovaire renferme de manière plusieurs types d'organites physiologiques les follicules d'une part et les corps jaunes d'autre part. Dans l'un et l'autre cas, il en existe en effet de plusieurs types présentant chacun leurs caractéristiques anatomiques mais aussi hormonales. Ces structures coexistent tout au long du cycle et interagissent dans sa régulation (DERIVAUX et JOARLETTE 1980-1984).

### **1.5. Les follicules:**

Les follicules sont dits primordiaux (0.04 mm), primaires (0.06 à 0.12 mm), secondaires (0.12 à 0.2 mm), tertiaires (0.3 à 2 mm) pré ovulatoires (2 à 20 mm) et de De Graaf (20 à 25 mm). Histologiquement, seuls les follicules pré ovulatoires et de De Graaf sont cavitaires et donc visibles par échographie. Anatomiquement, seuls les follicules pré-ovulatoires et de De Graaf sont palpables manuellement.

### **1.6. Le corps jaune:**

Lors de l'ovulation, le follicule diminue de volume, sa paroi se plisse et sa cavité se remplit d'un exsudat serofibrineux qui ne tarde pas à coaguler. Il s'en suit une importante néoformation capillaire d'une part et une importante

multiplication et transformation des cellules de la granuleuse en cellules lutéales (lutéocytes).

D'autre part. Au cours de cette phase de développement (premiers jours du metoestrus), le coagulum initial s'infiltré de sang et justifie l'appellation de corps jaune hémorragique ou encore de corps rouge donné à cette structure de couleur rouge sombre voire noirâtre.

Progressivement se multiplient deux types de cellules les unes dérivées de la granuleuse (grandes cellules lutéales), les autres dérivées de la thèque (petites cellules lutéales). Après quelques jours, ces cellules refoulent en tout ou en partie le coagulum vers le centre ou il persiste sous la forme d'une simple traînée ou sous la forme d'une cavité ou moins importante telle que celle observée dans les corps jaunes cavitaires. Les cellules lutéales se sont simultanément chargées en un pigment caroténoïde, la lutéine donnant au corps jaune pleinement développé sa teinte orange voir jaune caractéristique. Ce pigment est plus brunâtre chez les petits ruminants et la truie. Le corps jaune atteint alors une taille de 20 à 25 mm de large et de 25 à 30 voire 35 mm de long. Vers la fin du dioestrus, le corps jaune rentre progressivement en régression. Il prend une teinte plus rouille, sa saillie en surface (stigma) se réduit progressivement, il subit une dégénérescence fibreuse puis fibrohyaline qui lui donne un aspect blanchâtre (corpus albicans).

### **1.5.1. Corps jaune hémorragique :**

Structure de consistance molle de diamètre inférieur à 2 cm correspondant à un corps jaune en formation. Le diagnostic manuel de cette structure est difficile.



**Figure 1 :** Image d'un corps jaune hémorragique (DERIVAUX et JOARLETTE).

### 1.5.2. Corps jaune atrétique (corpus albicans):

Définition clinique: corps jaunes ayant régressés se présentant a la palpation manuelle sous la forme d'une structure dure, fibreuse, de la taille d'une tête de clou.

### 1.5.3. Corps jaune persistant :

Définition clinique: structure lutéal présente, en dehors de la gestation ou d'un pyromètre et en l'absence d'un retour en chaleurs de l'animal, au même endroit sur le même ovaire et de taille comparable lors de deux examens réalisés a 15 jours d'intervalle.

Le diagnostic du corps jaune persistant étant exceptionnel, ce terme ne devrait pas être employé.

### 1.5.4. Corps jaune cavitaire :

Définition clinique: structure à surface lisse et de consistance ferme (hépatique), de diamètre compris entre 2 et 3 cm présentant dans 60 % des cas une cavité de diamètre variable. Cette structure appelée à tort. Le corps jaune kystique n'a pas de signification pathologique.



**Figure 2 :** image d'un corps jaune cavitaire (DERIVAUX ET JOARLETTE).

## 1.6. Les kystes ovariens :

**1.6.1. Kyste folliculaire :** structure à paroi mince, lisse et répressible de taille supérieure à 2,5 cm (diagnostic manuel).



**Figure 3 :** Image d'un kyste ovarien (CHRISTIAN HANZAN).

**1.6.2. Kyste folliculaire lutéinisé :** follicule à paroi épaisse de diamètre supérieur à 2,5 cm présentant en périphérie un certain développement de tissu lutéal qui justifie également leurs appellations de kyste à paroi épaisse. Cette paroi explique leurs caractères moins répressibles que le kyste folliculaire

## **2-physiologie de l'appareil génitale de la vache:**

La vache est une femelle à reproduction non saisonnière; elle présente une activité cyclique pendant toute l'année. L'appareil génital de la vache subit des modifications, histologiques, anatomiques pendant une période physiologique très importante; connus sous le nom de cycle sexuel ou cycle oestral qui dure en moyenne 21j avec des variations de 16 à 24 j, commencent au moment de la puberté, se poursuivant tout au long de la vie génitale et ne sont interrompues que par la gestation (Soltner, 2001). Le cycle œstral est l'ensemble d'événements successifs groupés en deux grandes phases (Figure02): La phase folliculaire; Dure 3 à 5 j correspond à la croissance folliculaire. Cette dernière est composée en deux étapes à savoir:

**2.1. Pro œstrus :** qui se caractérise par la folliculogénèse dure 3-4 j.

**2.2. Oestrus :** qui est la période des chaleurs et l'acceptation du mâle et de la saillie dure 18 à 20 h, c'est la période de maturité folliculaire au niveau de l'ovaire suivie de l'ovulation qui aura lieu. 10 à 12 h après la fin de l'oestrus et se caractérise par des manifestation externe: excitation, recherche de chevauchement de ses compagnes, acceptation passive du de mucus (Figure 03a et 03b) (Derivaux et al; 1986).

Il est recommandée de pratiquée deux observations quotidiennes du troupeau d'au moins 20 minutes chacune, tôt le matin et en fin de journée.

La détection des chaleurs est très importante chez la vache car le moment de l'insémination influence fortement la fertilité de la vache. La fertilité

maximale est obtenue lorsque l'insémination est pratiquée à la fin de l'oestrus, soit 13 à 18 h avant l'ovulation (Lefebvre B.; 1993).

**2. 3. La phase lutéale :** dure 16 à 19 j correspond au développement du corps jaune puis à la régression de ce dernier. Cette phase est composée en deux étapes:

**2.4. Méta œstrus:** Dure 2 j correspond à l'apparition du corps jaune.

**2. 5. Diœstus:** C'est la période de sécrétion puis de régression du corps jaune dure 15j (Lefebvre B. ;1993).

### **2.6. Folliculogénèse :**

La folliculogénèse est l'ensemble des processus, de croissances et de maturations des follicules ovariens entre le stade de follicules primordial et le follicules ovulatoire (Monniaux et al, 1999), Plusieurs études ont montrés que ce phénomène est continu; puisque chaque jour des follicules entrent en phase de croissance (Driancourt et al, 1991) (Hanzan et al, 2000). Le processus de la folliculogénèse passe par plusieurs stades:

#### **2.6.1. Follicule Primordial:**

C'est le plus petit follicule observé, constitué d'un ovocyte ayant un diamètre de 20-35µm bloqué au stade dyplotène (Hanzan et al, 2000) entouré de 3 à 4 cellules aplaties (Driancourt et al, 1991).

#### **2.6.2. Follicules Primaires:**

Le passage de follicule primordial au stade primaire commence avant la naissance, ce phénomène se produit indépendamment des hormones gonadotropines et ne semble pas être soumis qu'au contrôle ovarien.

On note une élévation du diamètre et l'organisation de cellules folliculaires en une couche régulière de cellules cubiques; l'élément le plus important durant cette phase c'est l'apparition d'une couche hyaline constituée de glycoprotéine synthétisée par l'ovocyte, c'est la zone pellucide (Yanagimachi, 1994).

#### **2.6.3. Follicule secondaire:**

Pendant cette étape la zone pellucide est bien différenciée, l'ovocyte atteint un diamètre de 60 µm; 2-3 couches de cellules cubiques entourent l'ovocyte et formant la granulosa l'ensemble est limité par une membrane basale

appelée la membrane de Slavjanski; il est bien reconnue que les premiers stades de croissance folliculaire son indépendant des hormones gonadotropines (Monniaux et al, 1997).

## **2. 6. 4. Follicule tertiaire (cavitaire):**

Dit aussi follicules Plein (Soltner, 1993). Au niveau de la granulosa, il y'a l'apparition des petites cavités remplies de liquide folliculairt contient de l'exsudat, du plasma et des sécrétions des cellules folliculaires; l'agrégation des ces cavités forment une seule cavité appelé Antrum. L'augmentation progressive de la taille de ce dernier entraîne la séparation des cellules de la granulosa et formation du Cumulus Oophorus. Les cellules qui entourent l'ovocyte se différenciée et forme la corona Radiata. Deux couches de cellules très importantes entourent le follicule vers l'extérieur, la première est appelée la thèque interne et la deuxième la thèque externe (Hanzan et al, 2000).

A ce stade les follicules atteignent une taille de (4-5) mm, leur nombre dépend du nombre de follicule entrant en croissance, du taux de croissance folliculaire, et celui des follicules atrésiques (Armstrong, 1993).

## **2.6.5. Follicule mûr De Graaf**

C'est une phase terminale de la folliculogenèse, qui ne concerne en fait qu'un sur mille follicules entré en croissance (Saumond, 1991). Il est formé du nombre le plus élevé de cellules folliculaires qui ont une activité mîtotique minimale.

L'ovocyte est toujours entouré par les cellules de corona Radiata et le cumulus, la cavité folliculaire est gonflée par le liquide folliculaire, les deux thèques sont bien différenciées ainsi que la membrane de Slavjanski est nettement visible. A ce stade, la thèque interne devienne une glande à part entière, et la thèque externe ne forme qu'une couche fibreuse (Monniaux et Manget, 1997). Chez la femelle pubère, le follicule de De Graaf présente deux fonctions (Soltner, 1993).

- La production cyclique d'ovulation.
- Une production permanente d'oestradiol.

## 2.7. La régulation hormonale du cycle oestral de la vache :

Plusieurs phénomènes sont à la base de cette régulation:

### 2.7.1 Les Estrogènes :

Joues deux rôles différent selon la période du cycle, au début de la croissance folliculaire le taux faible des œstrogènes exercent un feedback négative sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, alors qu'en fin de croissance folliculaire le taux élevée des œstrogènes exercent un feedback positive sur l'axe hypothalamo-hypophysaire toute en stimulant la production de la GnRH par l'hypothalamus et donc la sécrétion intense d'hormones hypophysaire (FSH, LH), qui sont à l'origine du déclenchement de l'ovulation.

### 2.7.2 La Progestérone: a aussi un double rôle :

Pendant la majeure partie du cycle, elle est sécrétée à forte dose par le corps jaune, elle bloque l'axe hypothalamo -hypophysaire et prévient toute possibilité de décharge d'hormone hypophysaire par rétrocontrôle négative sur l'hypothalamus. En effet selon Drion et al (1996) le taux basale de progestérone, associé aux œstrogènes présentes en phase pro-oestrus entraine le pic de LH nécessaire à l'ovulation.

**L'inhibine** assure une régulation négative de l'ovaire sur l'axe hypothalamo-hypophysaire alors que l'activine favorise la synthèse et la libération de FSH.

**La PGF2a** permet la luteolyse, elle autorise ainsi l'arrêt de la sécrétion de progestérone, le levé du feedback négatif et la décharge d'hormones hypophysaires qui fait que l'ovulation devient possible (Vandwinkel, 2000)

## **Chapitre 2:**

Les Bactéries présentes dans  
l'appareil reproducteur de la  
vache

## 1-Principales bactéries présentes dans le tractus génitaux de la vache :

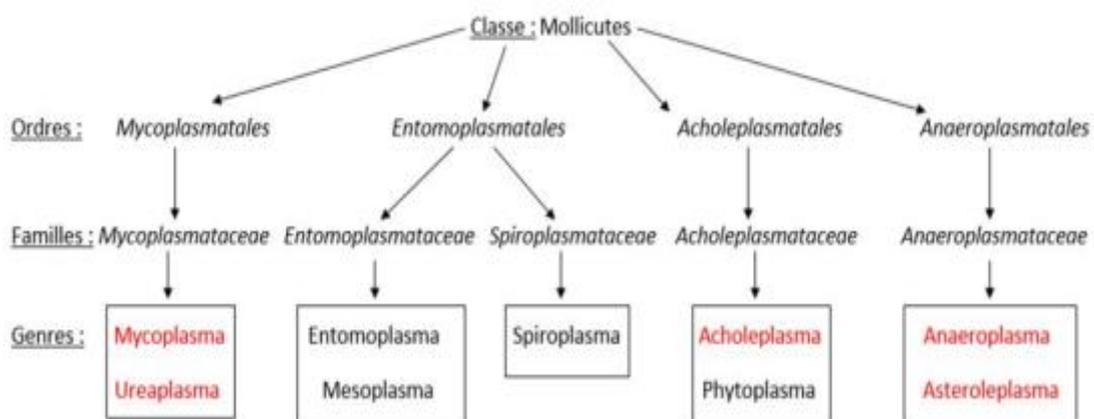
### 1.1. Les mollicutes :

Nous savons aujourd'hui que les *Mollicutes* ont une répartition mondiale et atteignent toutes sortes d'individus (humain, mammifères, reptiles, poissons, oiseaux, insectes et même plantes) (EDWARD, D. G. ff., HANCOCK, J. L. et HIGNETT; 1947). Il s'agit donc d'une classe bactérienne d'importance majeure qu'il est intéressant d'étudier pour comprendre de nombreuses maladies.

#### 1.1.1. Classement

Le 1er isolement de Mollicutes à partir de mucus vaginal et de sperme de bovin a eu lieu en 1947, dans des troupeaux souffrant d'infertilité et d'avortements idiopathiques en Angleterre (RAZIN, S., YOGEV, D. et NAOT ; 1998). On distinguait alors 2 sérogroupes : P (pour pathogène), qui requiert du sérum équin ou du liquide d'ascite humain dans son milieu de culture, et S (pour saprophyte), qui n'en a pas besoin à 20 °C (EDWARD, D. G. ff; 1950). Le séro groupe S s'est avéré être *Acholeplasma laidlawii* et la souche P, *Mycoplasma bovigenitalium*.

La classe des Mollicutes, créée en 1984, et d'abord appelée la classe des PPLO (pleuropneumonia-like organisms), regroupe de nombreux genres et donc de nombreuses espèces (fig. 1) :



**Figure 4 :** La classe des Mollicutes (en rouge, les espèces retrouvées chez les bovins)

la classe des Mollicutes est constituée de plus de 200 espèces variées. Les espèces d'intérêt médical, humain et vétérinaire sont réparties principalement dans les genres *Ureaplasma* (homme et animaux), *Acholeplasma* (homme, animaux et plantes) et *Mycoplasma* (homme et animaux). Notons aussi que les genres *Mycoplasma* et *Ureaplasma* regroupent les principaux pathogènes des ruminants. Dans cette thèse, nous nous intéresserons exclusivement aux genres *Mycoplasma*, *Ureaplasma* et *Acholeplasma*, car ce sont les seuls à avoir été isolés des tractus urinaires et génitaux des bovins (LE GRAND, P. et POUMARAT; 2008).

Il arrive régulièrement qu'on assimile à tort la classe Mollicutes aux seuls mycoplasmes, ce qui complique la compréhension de certaines publications dans lesquelles le terme est ambigu.

### 1.1.2. Propriétés

Les Mollicutes sont des organismes procaryotes dérivant d'un ancêtre commun aux bactéries Gram positives par évolution régressive (LE GRAND, P. et POUMARAT; 2008). Ce sont des bactéries majoritairement anaérobies facultatives. Ils n'ont pas de paroi, ce qui leur confère un caractère pléomorphe : leur forme change en fonction des conditions du milieu. Cependant, ils ont le plus souvent la forme de coques, tout en étant plus ou moins filamenteux. Leur capacité à se déformer leur permet de traverser des filtres biologiques de porosité comprise entre 0,2 et 0,4  $\mu\text{m}$ . Leur diamètre est compris entre 0,15 et 0,8  $\mu\text{m}$ . Ils représentent les plus petits êtres vivants capables de se reproduire. Leur méthode de reproduction a longtemps été controversée : développement de minuscules coques dans les filaments puis désintégration de ces derniers et/ou fission binaire et/ou reproduction par bourgeonnement (FREUNDT; 1974). De nos jours, il est communément admis qu'ils se reproduisent par fission binaire (EDWARD, D. G. ff., HANCOCK, J. L. et HIGNETT; 1947).

Les Mollicutes ont un chromosome unique. Il s'agit d'un double brin d'ADN circulaire, pauvre en bases guanine et cytosine (23 à 40 %) et de taille réduite (580 à 1 350 kpb), même si certains peuvent atteindre 2 200 kpb (C. CITTI ; 2006). Du fait de ce faible équipement génétique, ils ont un métabolisme réduit. On a longtemps considéré que le nombre de gènes impliqués dans la recombinaison génétique et dans la réparation de l'ADN étant restreint, cela provoquait une évolution dégénérative des Mollicutes. Toutefois, l'acquisition d'ADN exogène par transfert horizontal a depuis été prouvée. Elle permet aux Mollicutes d'acquérir de nouveaux gènes. Ces transferts sont plus ou moins

importants en fonction des espèces de Mollicutes et restent le plus souvent assez faibles. Il faut signaler qu'ils peuvent aussi avoir lieu entre deux espèces distinctes présentes dans un même hôte. Ils peuvent donc permettre aux Mollicutes de mieux s'adapter à leurs hôtes (SIRAND-PUGNET ; 2007).

### **1.1.3. Diagnostic**

De nos jours, très peu de kits commerciaux existent pour détecter les Mollicutes. Dans la majorité des cas, il est donc nécessaire de se référer à un laboratoire.

Chez les femelles, Lors d'infections génitales dues à des Mollicutes, les prélèvements à effectuer sont des écouvillonnages en région cervicale, vaginale ou vulvaire (notamment au niveau de la fosse clitoridienne), de préférence au niveau des lésions s'il y en a. En effet, lors de prélèvements pour cause d'infertilité, les zones d'inflammation actives de la vulve semblent être les plus porteuses de Mollicutes (YAEGER, M. J. et HOLLER ; 2007). Des prélèvements sur les avortons sont aussi possibles.

La méthode de prélèvement doit être choisie en fonction de l'espèce recherchée et de sa localisation habituelle. De plus, les prélèvements doivent être effectués de façon stérile.

Par exemple, pour prélever le mucus vaginal, il est préférable d'utiliser une lame émoussée qui ne rentrera pas en contact avec la vulve avant le prélèvement au niveau du vagin (BALL, H. J., NEILL; 1978)

## **1.2. Les leptospires :**

De nombreuses souches ont été découvertes ces dernières années et les avancées de la génétique ont permis d'actualiser les connaissances sur les leptospires. Actuellement, 64 espèces génomiques sont reconnues et sont désormais classées en deux groupes : les espèces pathogènes (37 espèces) contenant toutes les espèces de leptospires responsables d'infections chez l'homme ou l'animal et les espèces saprophytes, au nombre de 27, qui incluent les espèces retrouvées dans l'environnement et pour lesquelles la virulence n'a pas encore été prouvée (Vincent et al. 2019).

La classification phénotypique repose quant à elle sur la détection des anticorps agglutinants induits par les antigènes des leptospires : plus de 300 sérovars ont ainsi été

recensés. Parmi ces sérovars, certains possèdent des déterminants antigéniques communs, ce qui permet de les regrouper au sein de 25 sérogroupe.

Bien que sans correspondance avec la classification génomique, cette classification sérologique est toujours employée en clinique car elle apporte une information sur le sérogroupe impliqué dans la maladie qui peut être associé à une forme clinique particulière et un pronostic. L'approche sérologique est également utilisée en épidémiologie où l'information du sérogroupe donne une indication de la source bactérienne. Ces deux classifications ne se regroupent pas et ni le sérogroupe ni le sérovar ne peuvent prédire l'espèce à laquelle appartient la souche, comme le montre le tableau I ci-dessous.

<i>Sérogroupe</i>	<i>Espèces</i>
Australis	<i>L. interrogans, L. noguchii, L. borgpetersenii, L. kirschneri</i>
Autumnalis	<i>L. interrogans, L. noguchii, L. santarosai, L. borgpetersenii, L. kirschneri</i>
Canicola	<i>L. interrogans, L. inadai, L. kirschneri</i>
Grippotyphosa	<i>L. interrogans, L. santarosai, L. kirschneri</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans, L. weilii, L. inadai, L. kirschneri</i>
Panama	<i>L. noguchii, L. inadai</i>
Pomona	<i>L. interrogans, L. noguchii, L. santarosai, L. kirschneri</i>
Pyrogenes	<i>L. interrogans, L. noguchii, L. weilii, L. santarosai, L. borgpetersenii</i>
Sejroe	<i>L. interrogans, L. weilii, L. santarosai, L. borgpetersenii, L. meyeri</i>

**Tableau 1** : espèces de leptospires associées à un sérogroupe, d'après Levett (2001)

### 1.2.1. Contamination et n

La transmission de la maladie peut se faire par contact direct avec des urines d'animaux excréant les bactéries. Plus rarement, le sang peut aussi être une matière virulente mais la bactériémie étant de faible durée, son rôle épidémiologique reste anecdotique. Les fluides vaginaux des bovins peuvent contenir des bactéries (Loureiro et al. 2017) ainsi que le sperme des taureaux (Masri et al. 1997). Il pourrait donc également y avoir des risques de transmission vénérienne et transplacentaire (Ellis 2015 ; Loureiro et Lilienbaum 2020). Une étude en 2016 a démontré la présence possible de leptospires dans le lait et le tissu mammaire de rats (De Oliveira et al. 2016), mais cette voie n'est pas retenue comme mode de transmission, les bactéries étant vite détruites (Fratini et al. 2016). Néanmoins, la transmission est le plus souvent indirecte,

par contact avec des eaux ou des sols eux-mêmes contaminés par les urines d'animaux infectés.

Quel que soit l'hôte, la bactérie pénètre dans l'organisme par le passage à travers les muqueuses ou la peau lésée. Après une période d'incubation variable entre 3 et 20 jours, une bactériémie s'ensuit. Durant cette période, les leptospires peuvent être isolées dans le sang et dans la plupart des organes du corps (dont le foie, la rate, les reins, le tractus génital, les yeux et le système nerveux central) où elles se répliquent, mais aussi dans le liquide céphalorachidien. Cette phase peut durer jusqu'à 7 jours. Après 10 à 15 jours, les anticorps circulants deviennent détectables. Leur niveau est maximal trois semaines plus tard et peut être maintenu jusqu'à six semaines supplémentaires selon les espèces, après quoi ce niveau décline. Cependant, les anticorps persistent à long terme. Chez beaucoup d'animaux, des titres faibles peuvent être détectables pendant plusieurs années après l'infection (Ellis 2015 ; Grooms 2006)

Après la leptospirémie, les bactéries se logent dans les tubules proximaux rénaux où elles se multiplient et sont excrétées dans les urines. La durée et l'intensité de cette excrétion urinaire sont variables selon l'espèce, l'animal et le sérovar infectant. Chez les bovins, une infection persistante des tractus génitaux mâle et femelle par le sérovar hardjo peut durer plus de 12 mois. Les pertes vaginales peuvent donc aussi être infectées et sources de contamination de l'environnement (Leonard et al. 1992 ; Loureiro et al. 2017).

La pathogénie précise n'est pas clairement connue, mais il est supposé que la présence de leptospires dans l'utérus et les oviductes des vaches infectées pourrait interférer dans l'implantation de l'embryon et entraîner la baisse de fertilité constatée (Grooms 2006). Chez des chiennes infectées expérimentalement, les leptospires peuvent endommager l'endomètre et initier une réaction inflammatoire et une expression anormale des protéines de la matrice extracellulaire, ce qui mènerait à une interruption du développement embryonnaire (Wang et al. 2014). De plus, des études expérimentales sur des embryons bovins ont montré que les leptospires peuvent traverser la zone pellucide et envahir les cellules embryonnaires, ce qui abîme les membranes cellulaires et le cytoplasme (Bielanski et Surujballi 1998). Deux hypothèses sont proposées pour expliquer les morts embryonnaires précoces et le repeatbreeding : une inflammation de l'utérus qui empêche la survie de l'embryon ou son implantation et une infection directe de l'embryon par les bactéries qui l'endommagent.

### 1.2.2. Symptômes

Les signes cliniques et leur sévérité sont variables selon les sérovars infectants. Les bovins sont hôtes de persistance pour le sérovar hardjo qui entraînent peu de manifestations cliniques mais l'excrétion urinaire reste importante et peut perdurer plusieurs années (Ellis et al. 1986). Il existe cependant des exceptions sous certaines conditions, comme chez les individus naïfs, immuno-déprimés, en fin de gestation, prématurés ou avec une infection concomitante telle que le virus de la BVD. Parmi les signes cliniques décrits, une baisse de la fertilité et de la production laitière est courante. Les avortements et la naissance de « veaux mous » peuvent résulter d'une infection par Hardjo mais cela intervient généralement lorsque la vache est infectée pour la première fois lors de la gestation. Le syndrome du veau mou – aussi appelé « Weak Calf Syndrom » (WCS) – se manifeste par des veaux faibles à la naissance, avec un poids peu élevé, sans réflexe de succion et pouvant mourir rapidement. Ces avortements ont tendance à apparaître de façon sporadique, à l'inverse des sérovars pomona ou grippotyphosa qui créent plutôt des formes épizootiques lorsque ces souches infectent un troupeau (Grooms 2006).

Les formes aiguës sont peu communes. Les occurrences récemment rapportées chez des jeunes animaux dans la littérature ont été associées au sérogroupe Pomona au Brésil (Hamond et al. 2019) et aux sérogroupe Grippotyphosa et Australis en Belgique (Delooz et al. 2018).

Les signes cliniques incluent pyrexie, anémie hémolytique, hémoglobinurie, ictère, méningite et mort. Chez les vaches en lactation, les infections incidentelles sont souvent associées à de petites quantités de sang dans le lait. La phase aiguë lors d'infections cliniques par le sérovar hardjo est la plupart du temps subclinique, à l'exception des vaches en lactation où il peut y avoir une baisse de la production laitière, allant jusqu'à une agalactie. Ce syndrome, appelé « milk-drop syndrom » est caractérisé par plusieurs signes : une chute soudaine de la production laitière, une mamelle flasque avec les quatre quartiers atteints, l'hyperthermie est variable et peut ne pas être présente, le lait est de couleur jaune, semblable au colostrum, avec des caillots, le taux de cellules somatiques est important malgré l'absence des germes causant habituellement des mammites (Ellis 2015). La plupart des animaux retournent à une production normale en dix à quatorze jours avec ou sans traitement à l'exception de ceux en fin de gestation qui peuvent se tarir. La proportion

d'individus affectés peut varier de 1 à 50 %, selon l'immunité du troupeau et les pratiques de gestion. Les formes épizootiques sont rares et les cas individuels passent souvent inaperçus sauf si la production laitière est enregistrée tous les jours lors de l'utilisation de robots de traite.

L'infection est le plus souvent associée à des signes cliniques frustes tels qu'une baisse de la fertilité et des morts embryonnaires précoces. La maladie évolue silencieusement et passe souvent inaperçue ou n'est pas diagnostiquée, ce qui compromet les performances reproductives et donc la productivité d'un élevage pendant plusieurs années (Loureiro et Lilenbaum 2020). Les infections asymptomatiques sont probablement fréquentes, comme le suggère l'enquête à l'abattoir de Fang et al., 2015, sur 146 bovins sains. 73 % des bovins étaient séropositifs et 21 % des bovins avaient un portage rénal ou urinaire. Cette étude souligne également la forte disparité entre la séroprévalence et la prévalence réelle de l'infection. Sur le plan économique, l'infection par des leptospires pathogènes a donc de graves conséquences : l'infection persistante de l'appareil reproducteur entraîne une baisse de la fertilité, et donc une augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage (Guitian, Thurmond, et Hietala 1999 ; Dhaliwal et al. 1996). Cette baisse de la fertilité, associée à des avortements, des naissances prématurées, des veaux mous sont responsables d'importantes pertes économiques, notamment dans le cas d'infections chroniques de leptospirose bovine (Ellis 2015). Ces aspects cliniques indiquent que la leptospirose bovine est une maladie de l'appareil reproducteur, quelle que soit la souche infectante. Suite à la description de bovins positifs par PCR dans les sécrétions vaginales et négatifs dans les urines, Loureiro et Lilenbaum (2020) ont récemment suggéré la distinction de deux syndromes le syndrome génital associé à un portage bactérien utérin et le syndrome rénal associé à un portage rénal. La reconnaissance de ces deux entités pathologiques permettrait d'améliorer la détection des infections à l'avenir.

## **2. Agents pathogènes très probablement associés à la métrite et à l'échec de la reproduction :**

Une étude sur les bactéries potentiellement pathogènes a été réalisée par Wang et al., 2013 en utilisant à la fois une méthode basée sur la culture et le séquençage de l'ADN. Bactéries acidifiantes comme *Lactobacillus*, *Pediococcus*, Les staphylocoques et les entérocoques étaient plus abondants chez les vaches ayant développé une métrite post-partum. Toxines créées par d'autres bactéries, par exemple une toxine de type Shiga, le SLT d'E. Coli, et la bactériocine

pédiocine AcH/Pa-1, créée par *Pediococcus acidilactici*, semblaient également avoir un effet négatif sur l'appareil reproducteur. Ils ont conclu que la prolifération de bactéries pathogènes après la parturition, en particulier *E. coli*, contribue probablement au développement de la métrite chez les vaches laitières.

De plus, Rodrigues et al., 2015, ont comparé le microbiote vaginal de cinq sujets saines et de cinq vaches malades présentant des signes de maladie de la reproduction. Ils ont constaté que les vaches malades présentaient beaucoup plus de bactéries potentiellement pathogènes et acidifiantes, telles que : *Histophilus*, *Lactobacillus*, *Victivalles*, *Fibrobacter* et *Bacteroides*. Ces bactéries acidifiantes peuvent être nocives pour le canal vaginal en abaissant son pH, inhibant ainsi la croissance d'autres bactéries bénéfiques. Autres études du GI chez les humains et les animaux (Rodrigues et al., 2015 ; Runci et al., 2019) ont déterminé que certains genres bactériens seraient en compétition pour les éléments nutritionnels clés, comme le fer. De telles bactéries peuvent donc être particulièrement nocives pour le tractus vaginal. Il s'agissait de : Protéobactéries comme *Histophilus* et *Acinetobacter*, et *Corynebacterium* (*Actinobacteria*). Headley et coll., 2014, a également découvert qu'*Histophilus-somni* peut être associé à des avortements spontanés chez les bovins laitiers du Brésil.

Enfin, une étude de Díaz et al., 2019, a confirmé qu'*Ureaplasma diversum* est particulièrement toxique, avec un lien clair avec les maladies de la reproduction chez les bovins. Cette étude approfondie a testé *Ureaplasma diversum* à divers endroits dans les fermes et les abattoirs. Ils ont constaté que 64 % des vaches avec des lésions GGv ont été testées positives pour ces bactéries par rapport à celles sans lésions, 57 % avec une faible efficacité reproductive a également été testée positive, contre seulement 18 % qui ont été testés négatifs. 1/4 des fermes présentant des taux d'avortement élevés ont également été testées positives. *Ureaplasma diversum* était également répandu dans le foie des fœtus avortés. Toutes ces études semblent indiquer des liens entre certains niveaux de bactéries potentiellement nocives et leurs effets acidifiants sur le microbiome vaginal comme causes de problèmes de reproduction tels que l'infertilité, la métrite ou la perte embryonnaire précoce.

## **Chapitre 3:**

L'impact des bactéries de tractus  
génital sur la fonction reproductive  
de la vache

## **1. L'examen bactériologique de l'utérus :**

La bactériologie est l'examen qui certifie la présence ou l'absence d'un germe dans l'utérus.

### **1.1 Méthode d'examen vaginal**

La difficulté réside dans l'interprétation du résultat et dans la discrimination des germes pathogènes ou opportunistes. Il existe deux méthodes qui permettent la mise en culture de prélèvements utérins : le recueil d'un fragment d'endomètre par biopsie ou l'écouvillonnage de la paroi à l'aide d'un coton.

### **1.2. Ecouvillon utérin**

La vulve de chaque vache doit être soigneusement désinfectée puis l'écouvillon protégé par une capsule stérile est inséré à travers le canal cervical jusqu'à la lumière utérine, guidé par la palpation transrectale. Une fois dans l'utérus, l'écouvillon, découvert de sa gaine protectrice est déplacé deux centimètres en avant de la bifurcation des cornes et mis en contact avec l'endomètre utérin. Avant son retrait définitif, le coton est réintégré dans sa gaine protectrice. De façon stérile, l'écouvillon est placé dans un milieu de transport amies avec charbon. Le transport vers le laboratoire ne doit pas excéder une durée de 24 h.

### **1.3. Biopsie utérine**

Tout en manipulant le col de l'utérus à travers le rectum, l'instrument stérilisé est introduit par voie vaginale, à travers les replis du col puis, successivement, à l'intérieur de chacune des cornes utérines, trois à cinq centimètres en avant de la bifurcation. La pointe est ouverte et, grâce à la main présente dans le rectum, le fragment de muqueuse est pressé à travers les dents de la mâchoire de l'instrument qui se referment autour. Après extraction du système, le prélèvement est immédiatement placé dans une solution formolée fixatrice et conditionné afin d'être envoyé pour analyse microscopique à un laboratoire d'anatomopathologie.

### **1.4. Culture au laboratoire**

Chaque prélèvement est ensemencé sur gélose au sang puis cultivé à 37°C pendant 48 h en conditions aérobies et pendant une durée de sept jours pour l'anaérobiose. Les bactéries sont identifiées selon les critères suivants:

caractéristiques morphologiques des colonies, coloration de Gram, morphologie des bactéries, capacités d'hémolyse, profils biochimiques (système API ; BioMerieux, Marcy-L'étoile, France) et autres tests.

## **2. Intérêt diagnostique de l'examen bactériologique**

L'examen bactériologique permet de confirmer la présence ou non de germes dans l'utérus ou les écoulements. L'interprétation des résultats n'est cependant pas des plus aisée. Cela dépend en effet de la méthode utilisée pour prélever un échantillon, des conditions de stockage et d'envoi des prélèvements, de la capacité du laboratoire à faire l'analyse demandée, de la présence en quantité suffisante du germe dans le prélèvement, de son association avec d'autres germes pathogènes ou opportunistes, de son caractère pathogène ou opportuniste, du stade du postpartum ou encore de la pression d'infection présente dans l'exploitation. Ainsi, l'identification de *E. coli* le lendemain du vêlage augmente sensiblement la probabilité d'identifier *Arcanobacter pyogenes* ou des anaérobies à Gram négatifs quatorze jours plus tard (Dohmen et al., 2000). La présence d'*Arcanobacter pyogenes* est fortement corrélée avec celle des bactéries anaérobies à Gram négatifs.

A l'inverse, la présence d'*E. coli* et des Streptococci est négativement corrélée avec la présence d'*Arcanobacter pyogenes* (Dohmen et al., 1995 ; Miller et al., 1980 ; Studer et Morrow, 1978 ; Bonnett et al., 1991bc). La présence d'*Arcanobacter pyogenes* contribue à augmenter la gravité et la durée de l'endométrite (Dohmen et Loohuis, 1995). Le germe identifié peut également dépendre du moment du prélèvement au cours du postpartum (Sheldon et Dobson, 2004).

## **3. Échec de la reproduction chez les vaches**

Malheureusement, l'infertilité et les problèmes de reproduction constituent des problèmes majeurs dans l'industrie bovine. Dans une étude réalisée en 2019, le Dr Ryon Walker, consultant en élevage à l'Institut de recherche Nobel de L'Oklahoma a identifié 5 raisons d'échec reproductif qui méritent une attention particulière :

- Première cause : une mortalité embryonnaire précoce. Les taux de survie chutent considérablement au cours de la progression de gestation chez la vache. Au cours des 7 premiers jours, le taux de survie est de 95 %, mais au 28e jour, le

taux de survie est de 95 %. le taux tombe à 70 % et au jour 42, il tombe à 62 %. La raison de cette baisse spectaculaire n'est toujours pas compris.

- La deuxième cause d'infertilité est liée au père. De nombreux taureaux sont exclus de l'élevage examen de santé avant la saillie, puisqu'un taureau peut engendrer jusqu'à 30 veaux par saison, car contre un veau par vache. Les statistiques montrent qu'un taureau sur cinq est sous-fertile, d'après les tests effectués. dans une population aléatoire (Nani et al., 2019). Une autre étude a montré que les principales raisons pour lesquelles le taureau la sous-fertilité était une faible libido et une qualité de sperme inférieure (Khatun et al., 2013).

- La troisième cause est une mauvaise alimentation. Les vaches laitières, en particulier, ont des besoins énergétiques élevés liés au lait production, ce qui peut compromettre sa capacité à soutenir un veau pendant la gestation. Une vache est pauvre sa condition physique peut également inhiber sa capacité à se rétablir après la gestation afin de reprendre cyclicité.

- La quatrième cause d'échec de la reproduction est l'infection. Ceux-ci sont relativement rares, mais peuvent quand même avoir des conséquences graves, comme des mort naissances et des avortements. Certaines de ces infections comprennent : Virus bovin diarrhée (BVD), rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR), brucellose, leptospirose et bien d'autres.

Enfin, la cinquième cause d'infertilité est le manque de planification ou un mauvais timing. Les taureaux sont partis avec des vaches aussi une longue période aura un impact sur la saison de mise bas. Par conséquent, une partie du troupeau peut mettre bas plus tard dans la saison, ce qui peut également avoir un impact sur la viabilité du veau. Identifier les raisons de ces problèmes de reproduction est essentiel pour garantir le succès continu de l'industrie bovine. La recherche sur le microbiote vaginal de la vache est donc essentielle, afin de comprendre à la fois les circonstances qui l'affectent ainsi que leurs effets sur la santé reproductive des leur hôte.

#### **4. Microbiote vaginal et utérin lié à la maladie chez les vaches en gestation et en post-partum**

L'inflammation ou l'infection présente dans l'utérus peut compromettre l'état reproducteur d'un animal, comme l'ont montré de nombreuses études sur les bovins laitiers et les bovins de boucherie (Wang et al., 2017 ; CasLuengo et al., 2019).

Une étude réalisée par Jeon et al. en 2018 a révélé que le microbiote utérin se modifiait en fonction de différents traitements antibiotiques sur la mammite chez les bovins laitiers et les bovins de boucherie. traitements antibiotiques sur la mammite chez les vaches laitières en post-partum. L'étude a été réalisée sur 44 vaches laitières Holstein laitières Holstein chez lesquelles une mastite a été diagnostiquée et qui ont ensuite été réparties de manière aléatoire dans trois groupes différents. Le premier groupe a été traité avec du ceftiofur pendant 5 jours, le deuxième groupe a reçu de l'ampicilline trihydratée pendant 5 jours et le troisième groupe n'a pas été traité. Les résultats ont montré que l'indice Chao1 était significativement ( $P \leq .05$ ) dans tous les groupes du jour 1 au jour 6, tandis que l'uniformité a augmenté dans tous les groupes du jour 1 au jour 6, bien que l'indice de Chao1 ait été significativement réduit ( $P \leq .05$ ).

L'uniformité a augmenté dans tous les groupes du jour 1 au jour 6, bien que le changement n'ait été significatif que dans les groupes traités par le ceftiofur et les groupes non traités.

L'étude a démontré que les différents antibiotiques avaient des effets tout aussi divers sur le microbiote utérin. 99,2 % des phyla bactériens trouvés étaient, du plus abondant au moins abondant, des Bacteroidetes, des Fusobacteria, Firmicutes, Tenericutes et Proteobacteria. Les chercheurs ont constaté une augmentation significative ( $P < 0,01$ ) de l'abondance relative des Bacteroidetes, l'abondance relative des Bacteroidetes et une diminution significative ( $P < .01$ ) de l'abondance relative des Tenericutes du jour 1 au jour 6 (Jeon et al., 2018).

Ils ont remarqué un schéma similaire dans les populations de genres : Bacteroides, Porphyromonas et Prevotella au sein de l'embranchement des Bacteroidetes, Helcococcus, Sporanaerobacter et Peptoniphilus au sein de l'embranchement des Firmicutes, et enfin les Bacteroides, Porphyromonas et Prevotella et le genre Campylobacter, une protéobactérie, ont augmenté de manière significative ( $P \leq .05$ ), tandis que les genres Mycoplasma, un Tenericutes, et Sneathia, une Fusobacteria, ont été significativement diminué ( $P \leq .05$ ) du 1er au 6ème jour. Ils ont conclu que le groupe traité par le ceftiofur a entraîné des changements significatifs dans la plupart des catégories, tandis que le groupe traité par l'ampicilline a connu une évolution similaire à celle du groupe non traité n'a pas eu d'impact significatif sur les changements du microbiote (Jeon et al., 2009)

Une étude réalisée par Moore et al. en 2019 a associé le microbiote utérin au transcriptome utérin de vaches laitières post-partum cyclées et non cyclées. Leur hypothèse était que le transcriptome post-partum serait associé au statut de cyclicité des vaches ainsi qu'au microbiote pendant l'involution utérine (Moore et al., 2019). L'étude a utilisé 35 vaches en première lactation Holstein x Jersey de race laitière en première lactation. Trois échantillons d'endomètre ont été prélevés à 1, 5 et 9 semaines post-partum. Ces échantillons ont ensuite été analysés par amplification de la région V4 du gène 16S ARNr. Ils ont constaté que les lectures étaient plus nombreuses au cours de la semaine 1 chez les vaches qui ne pratiquaient pas la cyclicité par rapport aux semaines 5 et 9. Quatre des OTU les plus significatives ont été trouvées : Bacteroidales S24-7, Lachnospiraceae NK4A136, Clostridium sensu stricto 1, et Ruminococcaceae UCG-005. Il a été noté que leur abondance relative combinée était plus importante par rapport aux autres (Moore et al., 2019). 809 gènes ont été exprimés de manière différentielle en comparant les échantillons de la semaine 1 aux échantillons des vaches non cyclées de la semaine 5 et des vaches cyclées de la semaine 5. Les vaches de la cinquième semaine de cyclicité présentaient une régulation à la baisse des gènes de synthèse des protéines ainsi que des fonctions biologiques potentiellement nocives par rapport aux vaches de la cinquième semaine de cyclicité.

Des fonctions biologiques potentiellement nocives par rapport aux gènes des vaches non cyclées. En réponse à cela, les vaches de la semaine 5 de cyclicité ont donc eu une régulation à la hausse dans d'autres voies ainsi qu'une augmentation de certaines molécules cibles. 1489 gènes ont été exprimés par les vaches de la semaine 5 non cyclées lorsqu'on les a comparés aux gènes non cyclées.

L'article conclut que le microbiote peut jouer un rôle indirect dans le rétablissement de la cyclicité chez les vaches, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires.

Une autre étude a adopté une approche différente et a comparé le microbiote utérin et vaginal chez des vaches laitières qui étaient au stade de l'allaitement et des vaches laitières qui étaient en train de développer une endométrite post-partum. L'étude a émis l'hypothèse que pendant et après la mise bas, les microbiotes utérin et vaginal se mélangent, ce qui peut être une cause d'infection et une fois que le vagin et l'utérus auront eu la chance de revenir à la normale, ils seront différents chez les vaches saines par rapport aux

vaches qui développent une endométrite post-partum. (Miranda-Caso-Luengo et al., 2019). 97 vaches provenant de 3 fermes irlandaises différentes ont été utilisées dans cette étude.

Des échantillons ont été prélevés en double sur l'utérus et le vagin de chaque vache aux jours 7, 21 et 50 jours post-partum. Les échantillons ont ensuite été séquencés en amplifiant les régions hypervariables V1 et V3 de l'ARNr 16S. 26 des 97 vaches ont été diagnostiquées saines.

Ils ont constaté que plus l'abondance relative des OTU partagées dans le vagin était élevée, plus la fréquence de détection dans l'utérus était élevée. En corrélation avec cela, ils ont constaté qu'au 7e jour post-partum, les microbiomes vaginaux et utérins qui ont ensuite développé une endométrite étaient plus similaires à ceux des vaches saines. Ils ont noté qu'un retard dans la différenciation des microbiotes utérins et vaginaux augmentait les risques de dysbiose, ce qui rendait la vache malade après la mise bas.

Les 6 embranchements les plus abondants sont les Firmicutes, les Bacteroidetes, les Fusobacteria, les Proteobacteria et les Tenericacteria, Proteobacteria, Tenericutes et Actinobacteria. Chez les vaches malades, on a observé une réduction significative du nombre d'OTU, de la diversité bactérienne et de l'homogénéité des espèces par rapport aux vaches saines.

Cette étude a également montré que les vaches en bonne santé présentaient une plus grande quantité de Firmicutes, tandis que les vaches malades présentaient une grande quantité de Bacteroidus. Les vaches en mauvaise santé présentaient une quantité élevée de Bacteroidetes. Enfin, il a été remarqué qu'avec la perte de diversité dans le microbiome vaginal des vaches malades.

Dans le microbiome vaginal des vaches malades, la présence d'OTU dominantes du genre Streptococcus, Streptococcus et Bacteroidetes était plus importante. (Miranda-CasoLuengo et al., 2019). Cette étude a montré l'impact que les microbiotes utérin et vaginal ont l'un sur l'autre et comment leur microbiote différencié est crucial pour la santé des vaches.

Les vaches en mauvaise santé semblent présenter une diminution des bactéries, les bactéries dominantes émergentes prenant le contrôle du tractus vaginal. Les chercheurs ont supposé qu'il était possible de rétablir un microbiote vaginal sain et diversifié. À son tour, ce microbiote peut aider le microbiote

utérin à se différencier également. Cela peut permettre d'éviter des obstacles pendant la reproduction et peut aider à prévenir d'éventuelles maladies post-partum.

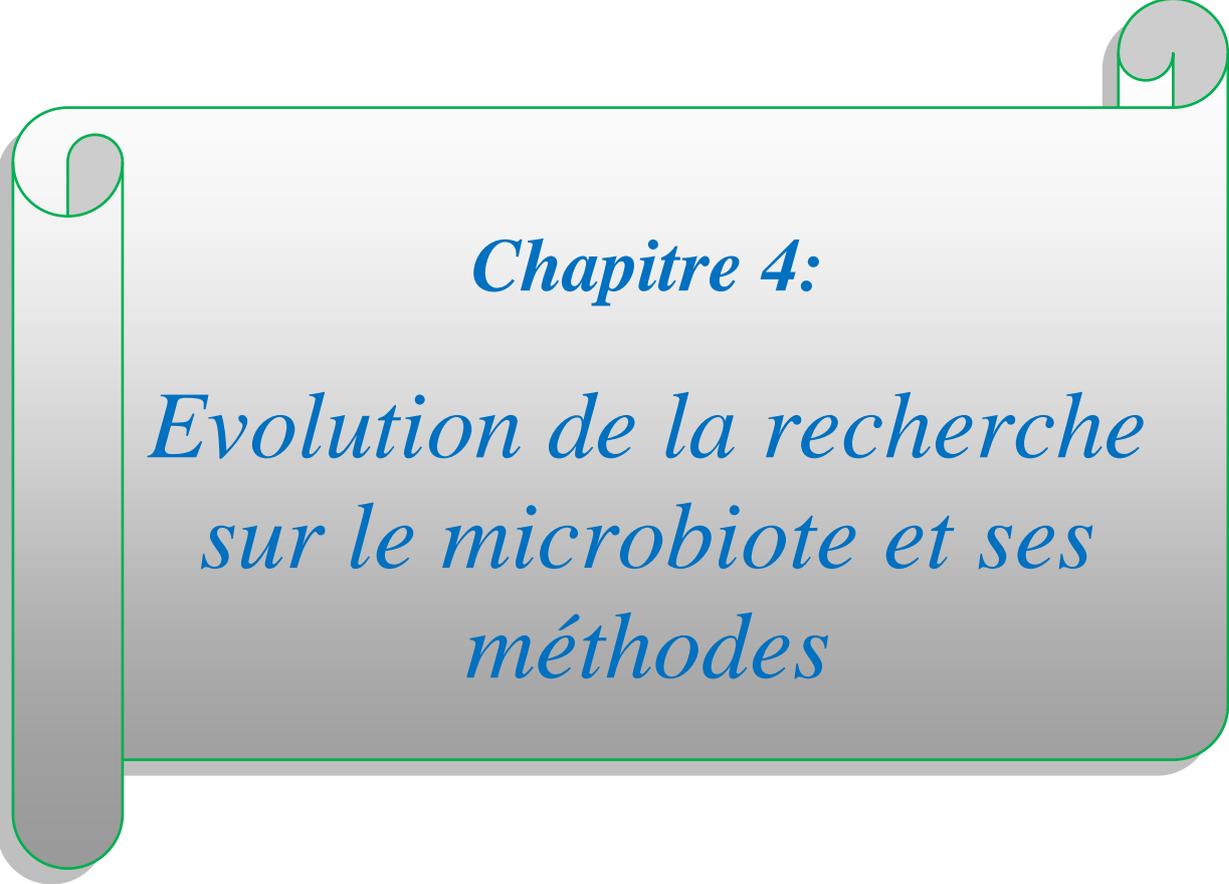
#### **5. Agents Pathogènes les plus susceptibles d'être associés à la métrite et à l'échec de la reproduction**

Une étude sur les bactéries potentiellement pathogènes a été réalisée par Wang et al., 2013 en utilisant à la fois une méthode basée sur la culture et le séquençage de l'ADN. Bactéries acidifiantes comme *Lactobacillus*, *Pediococcus*, Les staphylocoques et les entérocoques étaient plus abondants chez les vaches ayant développé une métrite post-partum. Toxines créées par d'autres bactéries, par exemple une toxine de type Shiga, le SLT d'*E. Coli*, et la bactériocine pédiocine AcH/Pa-1, créée par *Pediococcus acidilactici*, semblaient également avoir un effet négatif sur l'appareil reproducteur. Ils ont conclu que la prolifération de bactéries pathogènes après la parturition, en particulier *E. coli*, contribue probablement au développement de la métrite chez les vaches laitières.

De plus, Rodrigues et al., 2015, ont comparé le microbiote vaginal de cinq vaches saines et de cinq malades. Ils ont constaté que les vaches malades présentaient beaucoup plus des bactéries potentiellement pathogènes et acidifiantes, telles que : *Histophilus*, *Lactobacillus*, *Victivalles*, *Fibrobacter* et *Bacteroides*. Ces bactéries acidifiantes peuvent être nocives pour le canal vaginal en abaissant son pH, inhibant ainsi la croissance d'autres bactéries bénéfiques. Autres études du GI chez les humains et les animaux (Rodrigues et al., 2015 ; Runci et al., 2019) ont déterminé que certains genres bactériens seraient en compétition pour les éléments nutritionnels clés, comme le fer. De telles bactéries peuvent donc être particulièrement nocif pour le tractus vaginal. Il s'agissait de : Protéobactéries comme *Histophilus* et *Acinetobacter*, et *Corynebacterium* (Actinobacteria). Headley et coll., 2014, a également découvert qu'*Histophilus-somni* peut être associé à des avortements spontanés chez les bovins laitiers du Brésil.

Enfin, une étude de Díaz et al., 2019, a confirmé qu'*Ureaplasma diversum* est particulièrement toxique, avec un lien clair avec les maladies de la reproduction chez les bovins. Cette étude approfondie a testé *Ureaplasma diversum* à divers endroits dans les fermes et les abattoirs. Ils ont constaté que 64 % des vaches avec Les lésions GGV ont été testées positives pour ces

bactéries par rapport à celles sans lésions, 57 % avec une faible efficacité reproductive a également été testée positive, contre seulement 18 % qui ont été testés négatifs. 1/4 des fermes présentant des taux d'avortement élevés ont également été testées positives. *Ureaplasma diversum* était également répandu dans le foie des fœtus avortés. Toutes ces études semblent indiquer des liens entre certains niveaux de bactéries potentiellement nocives et leurs effets acidifiants sur le microbiome vaginal comme causes problèmes de reproduction tels que l'infertilité, la métrite ou la perte embryonnaire précoce.

A decorative graphic of a scroll with a light gray background and a green border. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the scroll.

*Chapitre 4:*  
*Evolution de la recherche  
sur le microbiote et ses  
méthodes*

### 1. L'évolution de la recherche sur le microbiote

Les premières preuves de la présence de micro-organismes dans le corps ont été découvertes par Leeuwenhoek en 1676, lorsqu'il décrit les microbes buccaux qui vivaient dans la bouche. Plus tard, au milieu des années 1880, Theodor Escherich, un pédiatre autrichien, a découvert la preuve que les micro-organismes vivent en symbiose chez l'homme. Il a comparé les bactéries présentes dans les intestins d'enfants sains et malades souffrant de diarrhée. Ces bactéries ont ensuite été nommées *Escherichia coli* (Rogers, 2019). Cependant, le terme « microbiome » était inventé en 2001 par le Dr Joshua Lederberg, alors qu'il travaillait sur la génétique microbienne et les renseignements (Goins, 2019). Ce terme est maintenant utilisé pour décrire le matériel génétique de micro-organismes habitant un environnement spécifique, tandis que le microbiote décrit les micro-organismes vivre dans un environnement particulier. Les ouvrages publiés avant 2001 ont utilisé les deux termes de manière interchangeable.

Bien que la recherche sur le microbiote ait progressé rapidement au cours de la dernière décennie, son évolution a pris beaucoup de temps. plus longtemps, et un large éventail de stratégies de culture variées sont encore utilisées, depuis les méthodes de base basées sur la culture jusqu'aux milieux de différenciation plus précis, en passant par le séquençage de l'ADN à l'aide de méthodes sophistiquées.

#### 1. 1. Méthodes basées sur la culture

Des années d'expérimentation ont eu lieu avant que les scientifiques puissent établir une méthode de culture fiable. Les premiers milieux de culture utilisés étaient les cellules du cœur et du cerveau. Celles-ci n'étaient pas sélectives, permettant ainsi la croissance excessive de micro-organismes indésirables. Grâce à d'autres expérimentations, les scientifiques découvrent que la levure est un milieu beaucoup plus fiable et efficace, et qu'elle est encore utilisée aujourd'hui (Bonnet et coll., 2019).

L'avènement de la boîte de Pétri, avec son couvercle transparent qui permettait aux chercheurs d'observer les la formation de colonies tout en limitant la contamination, était révolutionnaire. Ensuite, des milieux de culture solides, avec l'utilisation de gélatine et d'agar, a permis aux chercheurs d'observer la croissance de cultures pures (Guthertz, 2017). Ensuite, les scientifiques ont

enrichi ce milieu de croissance grâce à l'ajout de sang animal. Cela a favorisé la croissance de divers micro-organismes exigeants. (Russell et coll., 2006).

Enfin, les chercheurs ont déterminé que certaines cultures pouvaient être développées en régulant quatre paramètres environnementaux. Ceux-ci comprenaient : le choix des nutriments, l'atmosphère et l'humidité, température et temps d'incubation optimaux (Bonnet et al., 2019). Cela a conduit à la création de ou milieux différentiels, qui pourraient favoriser la croissance de certains micro-organismes tout en inhibant la croissance des autres. Ce média est créé grâce à l'ajout de substances comme les substances organiques et composants inorganiques et minéraux. Par exemple, le cristal violet est un colorant qui aide à classer bactéries, car il inhibe la croissance des bactéries Gram-positives. Les antibiotiques et les antiseptiques sont également utilisés pour prévenir ou corriger la contamination des échantillons et diminuer la prolifération rapide de bactéries commensales (Bonnet et al., 2019).

D'autres formes de contrôle dans les médias sélectifs sont tout aussi importantes. Par exemple, régler les paramètres environnementaux, tels que la température et les conditions atmosphériques, fournissent des informations aérophiles ou conditions anaérobies basées sur des niveaux d'oxygène variables (Stieglmeier et al., 2009). Entre-temps, la température est essentielle lors du développement de cultures cellulaires pour cultiver et isoler des bactéries intracellulaires : Les cellules de mammifères doivent être conservées à 36°C, tandis que d'autres lignées cellulaires, généralement celles d'amphibiens, de tiques, de moustiques, et le poisson, préfèrent 28°C. (Stewart, 2012 ; Penzo-Méndez et al., 2012). Une troisième méthode de contrôle consiste à réguler le temps d'incubation, puisque la plupart des agents pathogènes se développent sur 24 à 48 heures, tandis que les bactéries nécessitent un beaucoup plus longtemps, jusqu'à cinq jours (Dunn et al., 1997). Tous ces facteurs doivent être pris en compte pour fournir des conditions de croissance optimales pour le micro-organisme souhaité en cours de culture.

### **1. 2. La réaction en chaîne par polymérase (PCR)**

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) a été inventée en 1985 par Kary B. Mullis, et ce processus révolutionné la recherche génétique. Cela a permis aux scientifiques de faire des millions de copies d'un minuscule morceau de L'ADN, ouvrant ainsi des pistes d'études connexes, telles que le diagnostic de défauts génétiques, ou tests ADN comparatifs en criminologie. La PCR est

également très utile dans l'étude de l'évolution, puisque il permet une étude comparative d'échantillons vivants avec l'ADN de fossiles pouvant remonter à des millions de ans (Butler, 2015).

La PCR fonctionne grâce à la régulation de la température. Un thermocycleur est programmé pour modifier le température de la réaction toutes les quelques minutes. Tout d'abord, l'échantillon est chauffé pour amplifier un segment de L'ADN par dénaturation, qui le séparera en deux morceaux d'ADN simple brin. Suivant, l'enzyme Taq polymérase est ajoutée pour construire un nouveau brin d'ADN en utilisant ces simples brins comme modèles, pour créer une copie exacte de l'original. Ces étapes seront répétées plusieurs fois, à travers un cycle de dénaturation et de recuit, jusqu'à ce que des milliards de copies exactes soient répliquées, en seulement un quelques heures. (Garibyan et Avashia, 2014).

### 1. 3. Séquençage de nouvelle génération (NGS)

Le séquençage de l'ADN est le processus par lequel la séquence de nucléotides dans une section d'ADN peut être déterminé. La première méthode de séquençage de l'ADN a été inventée par Frederick Sanger en 1977. elle est restée la méthode privilégiée pendant les quarante années suivantes (Heather & Chain, 2016). Suivant Le séquençage de génération (NGS), également connu sous le nom de séquençage à haut débit, est un terme qui couvre un nombre de technologies de séquençage modernes différentes. Ces technologies peuvent séquencer l'ADN et ARN à un rythme très rapide et beaucoup moins cher que la technique de séquençage de Sanger. L'Illumina la méthode de séquençage de nouvelle génération (NGS) est basée sur le séquençage par synthèse (SBS), et des terminateurs de colorant réversibles qui permettent l'identification de bases uniques au fur et à mesure de leur introduction dans Brins d'ADN. Cette méthode est devenue la plus répandue car elle est extrêmement fiable. Un autre La méthode, connue sous le nom de méthode de séquençage Roche 454, est basée sur la détection de la libération de pyrophosphate, également par fluorescence, similaire au séquençage Illumina. L'avantage de cette méthode est qu'elle capacité à séquencer des lectures beaucoup plus longues que la méthode Illumina. Une troisième méthode est Ion Torrent ou séquençage Proton/PGM. Cette méthode ne repose pas sur des signaux optiques (ou fluorescence), puisque il détecte la libération directe de protons lorsque l'ADN polymérase incorpore individuellement des bases dans la chaîne. (Heather et chaîne, 2016).

NGS peut analyser le séquençage génomique et transcriptomique à grande échelle en raison de sa production à haut débit et de ses résultats au niveau de la gigabase. Les plateformes NGS peuvent séquencer des millions, même des milliards de petits fragments d'ADN en parallèle. Ces séquences sont ensuite analysées à l'aide de bioinformatique, des programmes informatiques basés sur une vaste bibliothèque numérique personnalisée avec précision paramètres de recherche. (Kulski, 2016). Les cliniciens explorent l'utilisation du NGS pour aider à déterminer de minuscules mutations dans l'ADN telles que : des substitutions, des insertions et des délétions.

The greatest hurdle in the widespread use of NGS sequencing is the cost of the technology capable of the fast data processing and large storage capacity required to run a sophisticated bioinformatics system, along with the specialised training of staff able to analyse the resulting data. (Kulski, 2016)

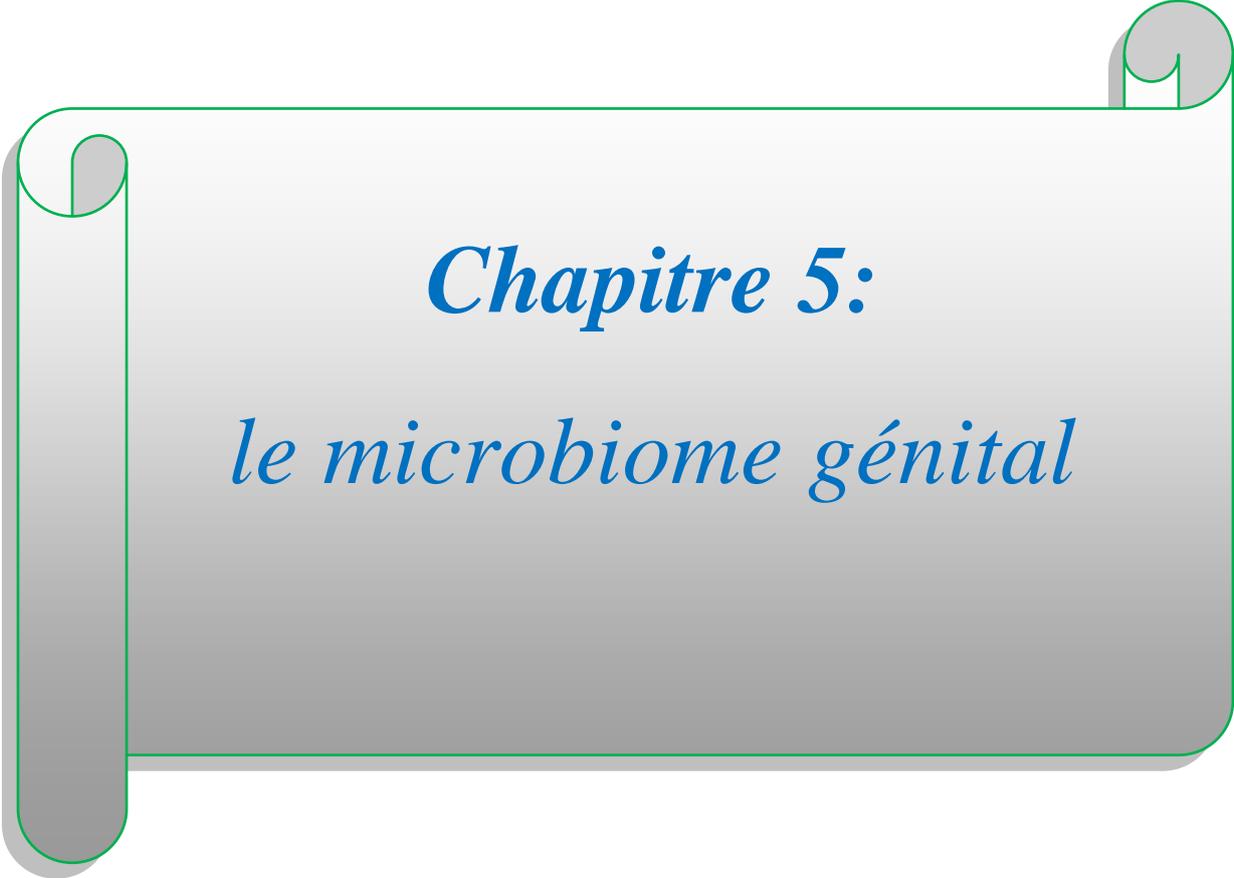
### 1. 4. Séquençage de l'ARNr 4.16S

Une autre fonction du NGS concerne la métagénomique, l'étude du matériel génétique dérivé directement du environnement. Ceci s'applique facilement à l'étude du microbiote grâce au séquençage du 16S.

Gène d'ARNr. Ce gène est unique aux bactéries, car il fait partie de la petite sous-unité 30S d'une ribosome procaryote. Son analyse dure depuis des décennies. Cependant, le haut débit le séquençage du gène complet est rare, car il fait environ 1 500 paires de bases, et donc trop cher un programme. Par conséquent, seules certaines régions sont séquencées à la fois, en fonction du paramètres de recherche spécifiques au chercheur. (Behjati et Tarpey, 2013). Ce gène en particulier est utilisé dans la reconstruction des phylogénies, car elle est hautement conservée. Il contient 9 régions hypervariables (V1 à V9) qui codent tous pour des choses différentes. Le degré de conservation varie considérablement entre ces régions : les régions les moins conservées ont tendance à montrer les genres et les espèces, tandis que les plus les régions conservées ont tendance à présenter une taxonomie de niveau supérieur (Johnson et al., 2019). Plateformes Illumina sont largement utilisés lors du séquençage des bactéries. Cependant, Illumina ne peut lire que 75 à 250 paires de bases. à la fois (Burk et Darling, 2016).

D'autres micro-organismes sont également facilement identifiés grâce au séquençage 16s, notamment Archaea et Les eucaryotes aiment les champignons.

Ces micro-organismes sont tous communément associés à divers problèmes de santé conditions chez les animaux, y compris les vaches laitières, et elles ont également tendance à varier au cours de la gestation. Beaucoup les études, dont la mienne, se concentrent sur la région V4 du gène, depuis son état semi-conservé le rend idéal pour identifier les genres bactériens (Johnson et al., 2019). Autres régions moins conservées se sont également révélées informatives : par exemple, la région V3 a été utile pour identifier diverses pathogènes tandis que la région V6 s'est révélée la plus précise dans la différenciation des espèces (Chakravorty et al., 2007). Bien que certaines recherches sur le microbiote se fassent encore par le biais de la culture méthodes, beaucoup plus d'informations sont désormais disponibles via NGS, qui s'ouvre rapidement les portes d'une meilleure compréhension du rôle des différents microbiotes dans leur relation symbiotique avec leur hôte.

A decorative scroll graphic with a light gray background and a green border. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

*Chapitre 5:*  
*le microbiome génital*

## 1. Définition du microbiome génital

Le terme microbiote englobe l'ensemble des micro-organismes qui colonisent un emplacement spécifique, comprenant non seulement des bactéries, mais également des champignons, des virus, des protozoaires et des archées (Huttenhower ; 2012). Les vaches hébergent des bactéries dans leur utérus même avant le vêlage et établissent un microbiome endométrial distinct dans les 20 minutes suivant le vêlage. Le microbiome endométrial des vaches sans endométrite et celles qui développent une endométrite sont similaires jusqu'au moins le deuxième jour postpartum. Cependant, l'abondance relative de Bacteroidetes et de Fusobacteria est plus élevée et celle de Proteobacteria et Tenericutes est plus faible chez les vaches qui développent une endométrite. (Jeon, S. J. et al ; 2015).

De plus, le tractus génital de différentes espèces, y compris les bovins, contient un mélange de bactéries, de protozoaires, de champignons et de virus (Lacroix, Desseyn ; 2020).. L'infection utérine résulte généralement d'infections bactériennes mixtes, et les principaux agents pathogènes microbiens impliqués comprennent *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*), *Bacteroides* spp. et *Prevotella* spp. (Sheldon, I. M. & Dobson; 2004)., (Santos, T. M. A., Gilbert, R. O. & Bicalho; 2011).

## 2. Population microbienne du tractus génital

Les populations microbiennes de l'appareil génital sont hautement variables et les genres *Lactobacillus* et *Bacteroides* sont les plus prédominants dans la flore vaginale des vaches et des vaches, respectivement Rodrigues, N. F. et al. (2015).

L'utérus possède un microbiome unique, en particulier pendant la gestation, lorsque le contenu cervical est isolé du contenu vaginal en raison du bouchon de mucus cervical présent pendant cette période (Miller, E. A; (2016). Un intérêt important s'est développé pour le microbiote de l'appareil génital ces dernières années au sein de la communauté scientifique, car le microbiote génital est considéré comme étant associé à l'infertilité ou aux maladies utérines.

## 3. Intérêt du microbiome génital

Le microbiome génital a des fonctions importantes dans l'appareil reproducteur féminin grâce à une compétition microbienne différentielle. Les

micro-organismes symbiotiques créent un biofilm qui complète le mucus cervico-vaginal, protégeant ainsi l'appareil génital de l'invasion par des agents pathogènes (Tang, G., G. C. & Mintz; 2008), (Swartz, J. D. et al; 2014).

De plus, les microbes commensaux produisent des molécules bioactives telles que l'acide lactique et les espèces réactives de l'oxygène qui inhibent la prolifération des pathogènes (Tachedjian, C. S. & Cone; 2017).

Pendant la gestation, certaines espèces de Lactobacilles confèrent une protection au fœtus et sont également associées à un accouchement normal, chez la femme (Romero, R. et al; 2014)

Certaines études récentes se sont concentrées sur d'autres aspects de la fonction reproductive des bovins influencés par le microbiome génital, tels que la production de phéromones et la signalisation semio-chimique sexuelle entre le mal et la femelle (Esposito, G. et al ; 2020).

#### **4. Les sources possibles de microbiomes génitaux chez les animaux**

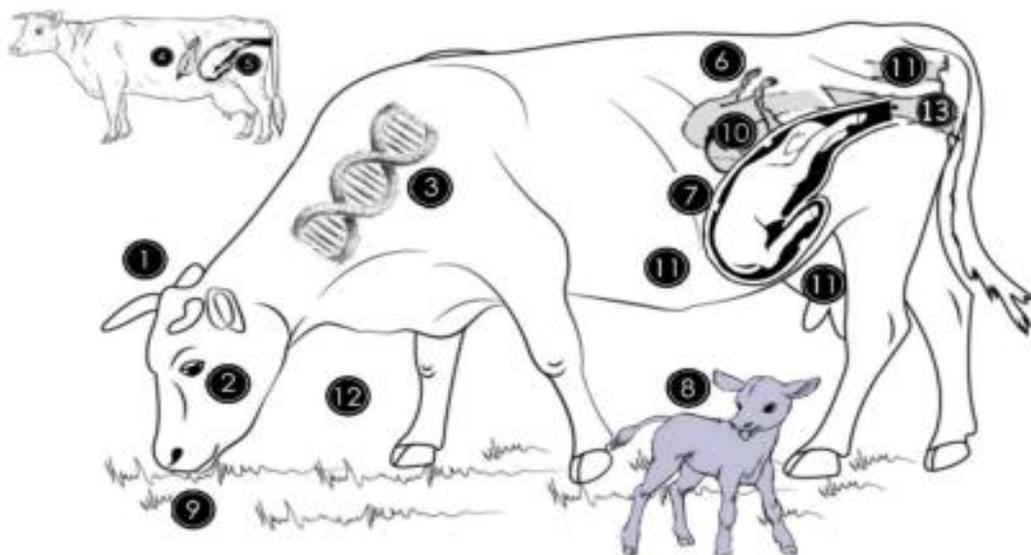
Bien que les microbes génitaux soient supposés provenir de l'environnement ou de différents organes tels que le rumen, la peau, le rectum ou les excréments, le vagin est considéré comme la principale source de microfaune endométriale, en particulier pendant les périodes où la lumière cervicale est moins restreinte durant ; l'œstrus, la reproduction ou la parturition (Figure 1)

Le mucus vaginal est moins visqueux pendant ces périodes, permettant à l'utérus d'être colonisé par diverses bactéries, champignons, virus et protozoaires d'origine vaginale (Lacroix, Desseyn ; 2020).. Il est à noter que les microbes peuvent également accéder à l'appareil génital par voie hématogène (Jeon, S. J. et al ; 2017). Lors de la mise bas, les micro-organismes prévalant dans l'environnement affluent dans l'utérus des vaches. Du point de vue immunologique, ces microorganismes sont reconnus comme étant pathogènes par le système de défense immunitaire de l'hôte, induisant ainsi une réponse pour éliminer les agents pathogènes. Typiquement, chez les bovins, il y a activation du système de défense de l'hôte pour l'élimination des bactéries lors de l'involution endométriale au cours des cinq premières semaines après la mise bas (Lin, Y. et al ; 2020).

## 5. L'évolution de la flore bactérienne dans le tractus génital des animaux

Chez l'homme, l'altération de la diversité microbienne normale peut entraîner une dysbiose, infertilité ou des maladies génitales telles que la candidose vulvo-vaginale (Adnane, M. & Chapwanya; 2022). (Dominguez-Bello, M. G. et al ; 2010). Plusieurs études ont été menées sur la dysbiose du tractus génital chez les animaux que nous détaillerons ultérieurement (Deng, F. et al; 2019). (Elsevier ; 2009)

Dans ce chapitre, nous nous concentrons sur l'origine, la diversité et la pertinence clinique de la microbiome et le risque de maladies utérines ou d'infertilité chez les bovins. Nous explorons également comment ces informations peuvent être utiles dans la réalisation de nouvelles stratégies thérapeutiques en utilisant les probiotiques et les prébiotiques dans la lutte contre les pathologies utérines.



**Figure 5 :** Origine du microbiote génital et facteurs pouvant affecter l'abondance et la diversité de la population microbienne (Adnane, M. & Chapwanya; 2022).

Le microbiote génital est hautement variable entre les espèces (Huttenhower, C. et al; 2012). et les individus de la même espèce (Jeon, S. J. et al ; 2015). Par exemple, chez les bovins, le microbiote génital est différent entre les races Gyr, Nellore et Holstein (Lacroix, Desseyn ; 2020).

Le microbiote général du veau nouveau-né est similaire au microbiome cutané de la mère en cas de césarienne (Sheldon, I. M. & Dobson; 2004)., et au microbiome vaginal en cas de parturition naturel (Santos, T. M. A., Gilbert, R.

O. & Bicalho; 2011). Les variations des concentrations d'hormones d'œstrogène et de progestérone pendant le cycle œstral influencent la croissance bactérienne dans le système génital en favorisant certaines espèces à différents moments Rodrigues, N. F. et al. (2015).

Pendant la gestation, la quantité et la diversité bactériennes diminuent tandis que l'abondance archéenne augmente dans le milieu vaginal (Miller, E. A; (2016). Les microbiomes vaginal et utérin des vaches indemnes de métrite au cours du premier mois postpartum sont similaires chez les vaches sans infections utérines, mais différent de ceux avec des infections utérines (Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon; 2019). La qualité et la quantité alimentaires périnatales modifient le microbiome endométrial grâce à l'apport de nutriments énergétiques et protéiques (Tang, G.,G. C. & Mintz; 2008).

Le microbiome utérin entre 10 et 35 jours postpartum est similaire chez les vaches non diagnostiquées avec une endométrite subclinique et celles qui développeront une endométrite subclinique (Swartz, J. D. et al; 2014). Le rumen, la peau, le rectum ou les matières fécales (Tachedjian, C. S. & Cone; 2017). contribuent à l'établissement du microbiote génital, tandis que l'environnement (Romero, R. et al; 2014). et la thérapie antibiotique intravaginale (Srinivasan, M., Adnane, M. & Archunan; 2021). peuvent également altérer le microbiote endométrial au cours de la vie de la femelle. Les découvertes révolutionnaires selon lesquelles le nouveau-né humain est exposé à des espèces bactériennes diverses, provenant de sources différentes selon le type d'accouchement, ont ouvert la voie à de nouvelles découvertes chez les animaux (Dominguez-Bello, M. G. et al ; 2010).

## **6. La dynamique de microbiome de tractus génital**

### **6.1. Le dogme classique**

Selon le dogme classique, l'environnement endométrial est stérile, en particulier pendant la gestation (Clark, W. A. & Stevenson, 1949). Il est maintenant connu que lors de la mise bas, les microbes présents dans le lieu de vêlage peuvent accéder à l'utérus de la vache (Parkinson, 2009), (Sheldon, 2001). Pour identifier les espèces bactériennes de contamination, les laboratoires utilisent régulièrement des tests microbiologiques basés sur la culture bactérienne (Karstrup, 2017). Le problème avec ce genre de teste, il ne permet d'isoler et identifier que les bactéries cultivables. L'intérêt croissant et rapide des techniques de séquençage de gènes signifient que des données de microbiome

plus détaillées et précises sont maintenant facilement disponibles. Les résultats obtenus lors de l'utilisation des méthodes de séquençage révèlent que l'utérus des bovins, n'est pas stérile et contient une microflore dynamique (Karstrup, 2017), (Singh; 2009).

Même pendant la gestation, lorsque le bouchon cervical est présent, ce qui isole la microbiome vaginale de celle de l'utérus, l'utérus des bovins contient une microbiome unique pendant la gestation . (Karstrup, 2017),

## 6.2. Les espèces bactériennes du tractus génital

Chez les bovins et les moutons, les phyla les plus courants dans le tractus génital sont les Bacteroidetes, les Fusobacteria et les Proteobacteria (Swartz, J. D. et al; 2014). Au niveau des genres, *Aggregatibacter* spp. et *Streptobacillus* spp. étaient les plus abondants. Fait intéressant, pour les populations microbiennes prédominantes dans le tractus génital humain, les *Lactobacillus* spp., étaient présentes dans 80% et 90% des échantillons vaginaux de brebis et de vaches, respectivement (Miller, E. A; (2016), (Swartz, J. D. et al; 2014).

## 7. Diversité du microbiote génital

### 7.1. Vagin

Les vaches sans infections utérines ont dans le vagin 15 taxons, principalement *Bacteroides* (28,3%) et *Enterobacteriaceae* (17,8%), ainsi que *Victivallis* (7,2%), *Streptococcus* (6,1%), *Phyromonadaceae* (5%), *Alistipes* (3,9%), *Coriobacteriaceae* (3,3%), *Clostridium* (3,3%), *Betaproteobacteria* (2,8%), *Corynebacterineae* (2,8%), *Cytophagaceae* (2,8%), *Oscillibacter* (2,8%), et *Planctomycetaceae* (2,8%). (Rodrigues, N. F. et al ; 2015).

Les vaches atteintes de maladies de la reproduction, comme l'écoulement vaginal purulent ont un microbiome vaginal plus diversifié contenant 68 taxons, dominé par *Bacteroides* (35,83%), *Enterobacteriaceae* (18,62%), *Histophilus* (8,79%), *Alistipes* (4,34%), *Flavobacteriaceae* (1,77%), *Victivallis* (8,49%), *Coriobacteriaceae* (2,44%), *Streptococcus* (2,09%), *Barnesiella* (2,03%), et *Oscillibacter* (1,24%) (Rodrigues, N. F. et al ; 2015).. Les résultats d'une autre étude ont indiqué que les *Enterobacteriaceae* non classées (21,05%), *Ureaplasma* (4,37%), et *Bacteroidaceae* non classées (2,49%) étaient les plus prédominants 17. Au niveau d'embranchement, les *Tenericutes* (36%), *Proteobacteria* (30%), *Fusobacteria* (7,6%), et *Firmicutes* (1,8%) étaient les plus abondants (Messman,

2020). Dans l'étude de Deng et al. (2019), les Firmicutes (31,57%), Proteobacteria (24,08%), Bacteroidetes (12,96%), et Tenericutes (4,95%) étaient les plus prévalents dans le vagin. Une comparaison des résultats de ces deux études récentes révèle que les proportions des populations microbiennes prédominantes diffèrent significativement entre les individus.

## 7.2. Utérus

Il est maintenant connu que les vaches ont un microbiome naturel dans l'utérus pendant la période de gestation (Karstrup, 2017), (Moore, 2017). Bien que les microbes utérins proviennent principalement du vagin, et dans un degré de la peau et du tube digestif, ce microbiome n'est pas aussi diversifié que celui du vagin (Sheldon, 2019). Les bactéries sont toujours présentes dans l'utérus. *F. necrophorum*, *Porphyromonas Levii* et *T. pyogenes* ont été détectés chez les vaches en gestation (Karstrup, 2017). De manière intéressante, des microbes opportunistes, tels que *Histophilus* et *Mycoplasmataceae*, peuvent devenir pathogènes (van der Burgt, 2007), (Nicholas; 2008). De plus, l'abondance bactérienne dans l'utérus avant le vêlage n'est pas associée à une inflammation, ce qui est indicatif d'une plus grande tolérance microbienne pendant la gestation. (Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon; 2019).

## 8. Les facteurs affectant la diversité du microbiome génital

Le microbiome génital change au cours de la vie de la femelle. Les populations microbiennes dans les voies génitales des animaux sont naturellement sélectionnées en raison de différentes fonctions symbiotiques. Par exemple, chez les vaches, les Lactobacilles utilisent leurs petites extensions membranaires, c'est-à-dire les fimbriae, pour adhérer à la muqueuse génitale 50. De même, le tissu vaginal est riche en collagène, une source précieuse de nutriments pour *Aggregatibacter spp.* (Tang, G., G. C. & Mintz; 2008), (Ulrich, D. et al; 2014).

Il existe également d'autres facteurs qui affectent la diversité du microbiome génital, certains étant spécifiques à la phase du cycle reproductif féminin, et d'autres étant extrinsèques tels que la nutrition. De manière intéressante, le microbiome vaginal pourrait avoir été originaire du microbiome intestinal d'un point de vue évolutif, car il existe des similitudes marquées entre la population microbienne des deux parties anatomiques.

Il semble que cette similarité microbienne est due au fait que le vagin et l'anus sont juxtaposés et que les matières fécales sont souvent en contact avec la vulve (Moore, 2017).

Cependant, nos pensées prédominantes actuelles sont que le microbiome génital du nouveau-né provient initialement du tissu maternel qui est en contact avec le nouveau-né après la mise bas, comme décrit précédemment dans ce chapitre. Le microbiome génital subit ensuite plusieurs changements au cours de la vie de la femelle sous l'effet de nombreux facteurs, notamment la contamination par le microbiome d'organes proches tels que le tractus gastro-intestinal.

Des découvertes récentes soutiennent notre hypothèse (Deng, F. et al; 2019). (Figure 1). Lorsqu'il y a eu une comparaison des changements de la population microbienne dans les échantillons de matières fécales et vaginaux prélevés avant la mise bas et à différents stades de la période gestationnelle, la diversité microbienne fécale était la même, mais le microbiome vaginal a changé de manière dynamique à différents stades de la période gestationnelle.

### **8.1. Facteurs intrinsèques**

Il est supposé que la variation individuelle des espèces microbiennes dans le tractus génital des bovidés ait des effets sur la fertilité de la femelle 44. Cette variation pourrait être expliquée comment certains animaux développent une résistance et d'autres sont infectés par des maladies utérines. De telles différences sont supposées être courantes chez d'autres mammifères, y compris les humains (Figure 1) (Huttenhower, C. et al; 2012).

#### **8.1.1.Espèces**

Le microbiome génital est diversifié chez les espèces animales et également entre les individus, ce qui perturbe la régulation des hormones de reproduction (Figure 1) (Swartz, J. D. et al; 2014). Par exemple, dans deux études distinctes utilisant soit des vaches atteintes d'endométrite, soit celles à qui on avait administré du lipopolysaccharide bactérien (LPS), les concentrations d'estradiol étaient plus faibles et la période jusqu'à l'ovulation était relativement prolongée pendant la phase folliculaire du cycle reproductif (Sheldon ; 2002), (Williams ; 2007)

Les microbiomes vaginaux des bovins étaient composés d'une grande abondance d'*Enterococcus spp.*, de *Staphylococcus spp.* et de *Streptococcus spp.*, ce qui différait du microbiome vaginal des brebis où il y avait une prédominance de *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Escherichia spp.*, *Staphylococcus spp.* Et *Streptococcus spp.* (Otero ; 1997), (Manes ; 2010).

De point de vue d'embranchement, les microbiomes génitaux chez les vaches et les brebis étaient composés principalement de Proteobacteria, Fusobacteria et Bacteroidetes. Au niveau des genres, *Aggregatibacter spp.*, et *Streptobacillus spp.*, étaient les espèces les plus prédominantes (Swartz, J. D. et al; 2014). Bien que les Lactobacilles soient détectés chez 80% des brebis et 90% des vaches, la population microbienne totale est moins abondante, ce qui conduit à un environnement vaginal presque neutre par rapport à l'environnement acide chez les vaches où il y a une grande population de Lactobacilles (Swartz, J. D. et al; 2014). En plus des Lactobacilles, les vaches et les brebis partagent plusieurs genres, principalement *Sneathia spp.* *Porphyromonas spp.* et *Prevotella spp.*, (Miller, E. A; (2016), (Swartz, J. D. et al; 2014), Un faible ratio Firmicutes/Bacteroidetes est un indicateur précoce des vaches qui développeront ultérieurement une endométrite postpartum (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019).

### 8.1.2. Race

Chez les bovins Gyr, une race laitière courante dans les pays d'Amérique du Sud tels que le Brésil, le microbiome vaginal est enrichi en bactéries et en champignons, tandis qu'il y a une petite population d'archées (Figure 1) Giannattasio-Ferraz, S. et al ; 2019). Parmi les bactéries, les embranchements Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria et Actinobacteria ont été les plus fréquemment détectés. Les genres fongiques les plus fréquemment détectés étaient *Mycosphaerella* et *Cladosporium*. Bien que les archées étaient en faible abondance, le genre *Methanobrevibacter* était le plus abondant.

Chez la race viandeuse Nellore, le microbiome vaginal est principalement composé de Firmicutes Bacteroidetes, Proteobacteria et jusqu'à 20% de bactéries non classées (Laguardia-Nascimento, 2015). *Mycosphaerella* était le genre fongique le plus abondant, tandis que *Methanobrevibacter* était le genre archéen prédominant. Chez les bovins Holstein Friesian, la race la plus ubiquiste en matière de production laitière en Afrique du Nord, en Europe et aux États-Unis, le microbiome vaginal était principalement composé des embranchements

Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria et Bacteroidetes. D'autres bactéries ont été détectées en quantités plus petites, telles que les Actinobacteria et les Spirochaetae.

### **8.1.3. Mode de mise bas**

Le type de parturition est l'un des principaux facteurs affectant la diversité du microbiome génital (Dominguez-Bello, M. G. et al ; 2010). Le microbiome général du nouveau-né est similaire au microbiome cutané maternel si la mise bas est faite par césarienne et similaire au microbiome vaginal s'il s'agit d'une mise bas naturel (Figure 1). Les communautés bactériennes établies tôt fournissent une protection contre les bactéries pathogènes qui peuvent être des agents infectieux pour le nouveau-né.

Alors que le vagin maternel est la principale source de microbiome naturel, un microbiome néonatal unique est établi peu de temps après la mise bas avec des microbes provenant d'autres sources. Par exemple, en cas de césarienne, le nouveau-né a une prévalence plus élevée d'infections cutanées à *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) résistant à la méticilline (MRSA) (64-82 %) par rapport aux nouveau-nés d'une mise bas naturel (Dominguez-Bello, M. G. et al ; 2010). (Barba, M. et al; 2020).

### **8.1.4. Cyclicité œstrale**

Les cycles œstraux chez les bovins sont régulés par des changements de concentration hormonale avec des concentrations relativement plus élevées d'œstradiol pendant le pro-œstrus et l'œstrus et des concentrations relativement plus élevées de progestérone pendant le mét-œstrus et le di-œstrus, ayant des effets considérables sur le pH vaginal chez les mammifères (Gorodeski, 2005), (Perry, G. A. & Perry, 2008).

Les microbes sont très sensibles au milieu acide ; par conséquent, il est supposé que lorsqu'il y ait des concentrations plus élevées d'œstradiol, il y aura des effets sur le microbiome dans le milieu génital de certaines espèces, avec des effets variant en fonction des concentrations d'œstradiol (Figure 1).

Les résultats d'une étude récente ont indiqué que les populations de *Bacteroidete* spp, *Histophilus somni*, *Actinobacillus seminis* et *Fusobacterium* non classés augmentent lorsque les concentrations d'œstradiol sont relativement plus faibles dans le milieu vaginal (Messman, 2020). Lorsqu'il y a des concentrations

d'œstradiol relativement plus élevées dans le milieu vaginal, les Pasteurellaceae non classées sont les bactéries les plus prédominantes dans le vagin. De même, lorsque les concentrations de progestérone sont plus élevées, les populations microbiennes dans le vagin sont relativement plus grandes (Laguardia-Nascimento, 2015), (Otero, C. et al; 1999).

### 8.1.5. Gestation

Pendant la période de gestation, il y a une faible diversité microbienne au niveau vaginal et une plus grande population archéenne 44. Les espèces bactériennes présentes dans le vagin pendant la période de gestation sont moins diverses en raison de la concentration relativement élevée de progestérone qui entraîne la suppression de la population microbienne vaginale (Figure 1) (Otero, C. et al; 1999). La population microbienne relativement faible dans le vagin pendant la période de gestation pourrait entraîner un risque accru de dysbiose et d'avortement.

### 8.1.6. Postpartum

Une grande variation entre les individus a été signalée dans le microbiome utérin des vaches sans infection utérine au cours du premier mois postpartum (DPP) (Pascottini, O. B. et al; 2020), (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019). La diversité bactérienne étant similaire chez les vaches sans inflammation utérine et celles avec inflammation utérine à 10, 21 et 35 JPP; cependant, le microbiome utérin était nettement différent entre les deux groupes (Figure 1) (Pascottini, O. B. et al; 2020) Sur la base des résultats d'une analyse métagénomique de prélèvements utérins prélevés trois fois au cours des 35 premiers JPP, le microbiote utérin des vaches sans inflammation utérine était principalement composé de *Porphyromonas*, *Bacillus*, *Schlegelella*, *Paracoccus* et *Fusobacterium* (Pascottini, O. B. et al; 2020) Les microbiomes vaginaux et utérins des vaches sans inflammation utérine au cours des 50 premiers JPP étaient similaires et hautement enrichis en Firmicutes (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019).

Cette découverte peut s'expliquer par le fait que peu de temps après le vêlage, la lumière cervicale est moins constrictif, ce qui entraîne un mélange du milieu vaginal et utérin avec un mouvement de ces contenus dans tout le tractus reproductif. Nous émettons l'hypothèse que chez les vaches sans inflammation utérine, le microbiome génital n'est pas contaminé lors du vêlage par le

microbiome externe ou du moins n'est pas affecté pendant une période prolongée après le vêlage. Une comparaison du microbiome génital des vaches gestantes avant le vêlage rétrospectivement avec celles qui développent une endométrite après 21 JPP par rapport à celles qui continuent à avoir un utérus non infecté a révélé que le microbiome génital avant le vêlage était similaire au microbiome vaginal des vaches en bonne santé qui n'ont pas développé d'infections utérines ultérieurement à 21 JPP (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019).

## **8. 2. Facteurs extrinsèques**

### **8.2.1. Nutrition**

La population microbienne de l'utérus des vaches laitières pendant la période postpartum est affectée par la qualité de l'alimentation, en particulier la teneur en énergie, autour du moment de la mise bas (Figure 1). (Esposito, G. et al ; 2020).

Les vaches qui ont reçu 80% des besoins énergétiques ont présenté une inflammation utérine, et les espèces prédominantes du microbiome utérin étaient Bacteroidetes et Fusobacteria . Une comparaison du microbiome utérin avant et après la mise bas chez les vaches qui ont développé une métrite avec celles qui n'ont pas contracté de métrite a indiqué que les vaches atteintes de métrite avaient principalement des Bacteroides et des Fusobacteria et une faible abondance de Proteobacteria et Tenericutes, ce qui était nettement différent de celles qui n'avaient pas de métrite (Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon; 2019).

Par conséquent, la nutrition affecte le microbiome génital par la modulation du métabolisme général et des fonctions immunitaires et augmente le risque de dysbiose et infections génitales.

### **8.2.2. Pathologies génitales**

#### **8.2.2.1. Endométrite**

Il est intéressant de noter que les vaches atteintes d'endométrite subclinique ont un microbiome utérin similaire à celui des vaches sans inflammation utérine entre 10 et 35 JPP; cependant, les vaches atteintes d'endométrite clinique présentaient une composition de microbiome différente par rapport aux deux autres groupes (Figure1) (Pascottini, O. B. et al; 2020).

Les vaches atteintes d'endométrite clinique ont une diversité bactérienne réduite caractérisée par une plus grande prévalence de *Fusobacterium* et *Trueperella* associée à une moindre abondance d'*Escherichia*, *Shigella*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Schlegelella* et *Streptococcus* par rapport aux vaches sans inflammation utérine et à celles avec une endométrite subclinique (Pascottini, O. B. et al; 2020), (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019). Ce dernier groupe présentait une prévalence relativement plus élevée d'*Anaerococcus*, *Corynebacterium* et *Staphylococcus* par rapport aux vaches atteintes d'endométrite clinique.

La population microbienne de l'utérus et du vagin à 7 JPP est associée au risque de développer une endométrite clinique après 21 JPP (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019). Le microbiome vaginal à 7 JPP chez les vaches atteintes d'endométrite est fortement enrichi en *Bacteroides*, *Helcococcus* et *Fusobacterium*, contrairement aux vaches sans inflammation utérine où les *Firmicutes* sont les plus prédominants. Les comparaisons des microbiomes utérins et vaginaux chez ces animaux ont indiqué qu'à 7 JPP, la composition microbienne est similaire entre les deux compartiments, mais cette similitude est moins importante entre 21 et 50 JPP (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019). Ces résultats confirment que le microbiome génital des vaches à risque de développer une endométrite n'est pas complètement établi pendant le premier mois postpartum, contrairement aux vaches sans inflammation utérine où les microbiomes utérin et vaginal sont bien établis dès le septième jour postpartum (Miranda-CasoLuengo, R. et al ; 2019).

#### 8.2.2.2. Métrite

La métrite, qui se manifeste par une inflammation marquée de l'endomètre et du myomètre peu de temps après le vêlage et avant le 21ème JPP, est caractérisée par une quantité relativement plus faible de microbiome vaginal et une abondance relative plus élevée de *Bacteroides*, *Porphyromonas* et *Fusobacteriu* (Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon; 2019), (Sheldon; 2008). De même, les vaches atteintes de métrite ont un microbiome utérin nettement enrichi en *F. necrophorum*, *Porphyromonas levii* et *Prevotella melaninogenica* par rapport aux vaches sans métrite (Cunha, F. et al ; 2018).

*E. coli* est une autre bactérie intéressante détectée tôt postpartum chez la plupart des vaches, car la présence de ce microbe est importante pour le développement de *F. necrophorum*, ce qui conduit à la métrite, tandis que cette

dernière bactérie est souvent détectée en association avec *T. pyogenes* dans le cas d'endométrite (Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon; 2019), (Bicalho, 2012).

Chez les vaches atteintes d'une atrophie vaginale légère ou modérée, la population microbienne vaginale a tendance à être principalement composée d'agents pathogènes invasifs, principalement *Streptococcus* et *Prevotella* (Brotman, R. M. et al ; 2014).

Les microbiomes des bovins diagnostiqués avec une vulvovaginite nécrotique (BNVV), par rapport à ceux qui n'ont pas été diagnostiqués avec BNVV, sont caractérisés par une diversité microbienne relativement élevée et une grande abondance de *Bacteroidetes* (Shpigel, N. Y. et al ; 2017).

## *Chapitre 6:*

Stratégies de manipulation de  
microbiote et leurs impact sur le  
microbiote vaginal

### 1. Intervention et supplémentation

Compte tenu de la littérature croissante reliant la dysbiose et les agents pathogènes aux faibles taux de gestation et aux échecs de gestation, de nombreuses entreprises et chercheurs préconisent l'utilisation de la supplémentation comme type de manipulation du microbiote pour de nombreux usages. Ajouter des probiotiques et des prébiotiques à l'alimentation du bétail pour augmenter la production de lait et faciliter la digestion est désormais monnaie courante. Des recherches sont en cours pour élargir ces schémas de supplémentation pour cibler le microbiote vaginal, dans l'espoir de prévenir la dysbiose et maladies connues, telles que la métrite, qui affectent les taux de gestation.

La plupart des stratégies de manipulation du microbiote impliquent une forme d'enrichissement du microbiome natif grâce à une supplémentation en bactéries bénéfiques. Ceci est fait dans le but de corriger tout dysbiose du microbiote. Deux formes de cette manipulation sont l'utilisation de probiotiques et prébiotiques. Un autre aspect de la manipulation consiste à inhiber de manière ciblée les bactéries pathogènes.

Grâce à l'utilisation d'antibiotiques. La plupart des stratégies de manipulation se sont concentrées sur le microbiote intestinal. de nombreux régimes de suppléments probiotiques et prébiotiques sont facilement disponibles. Certains chercheurs ont pris ces résultats et les a appliqués au microbiote vaginal pour observer si de tels supplémentation peut améliorer la santé reproductive des vaches. (Otero et al., 2006) Le développement d'une stratégie fiable peut être essentiel pour améliorer les taux de fertilité des vaches en maintenant un microbiome sain.

#### 1. 1. Probiotiques

Les probiotiques sont des microbes vivants qui peuvent avoir de nombreux bienfaits pour la santé lorsqu'ils sont consommés ou appliqués sur le corps. Ils peuvent être trouvés naturellement dans les aliments fermentés comme le yaourt et le kimchi, ou peuvent être pris sous forme de supplément. Ils sont également utilisés dans les produits de beauté, car ils sont ajoutés à de nombreux hydratants. Les probiotiques peuvent faciliter la digestion des aliments ou détruire les cellules responsables de maladies, et peuvent même produire des

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

---

vitamines. Ils interagissent avec le microbiome intestinal en produisant des métabolites ou cellules spécifiques. Y compris les SCFA (acides gras à chaîne courte). Ils peuvent améliorer la barrière intestinale et réduire l'inflammation grâce à leurs interactions et sécrétions (Wieërs et al., 2019). Les Probiotiques contiennent une variété de micro-organismes différents. Les plus courants pour la consommation humaine sont Lactobacilles et bifidobactéries, utilisés pour soulager les symptômes du SCI et favoriser la santé intestinale.

Les bienfaits des lactobacilles sont considérables, car ils peuvent également aider à synthétiser des vitamines comme B2, B11 et K (Gu et Li, 2015). La levure est également un probiotique majeur, comme *Saccharomyces boulardii*, souvent utilisé pour soulager la diarrhée (Rezac et al., 2018). Les probiotiques peuvent également améliorer l'immunité pour agir comme une défense contre les maladies et les agents pathogènes.

Étant donné le succès des lactobacilles et d'autres bactéries acidifiantes dans le maintien d'un intestin sain et microbiome vaginal chez l'homme, les chercheurs ont tenté de créer un probiotique similaire à utiliser dans bétail. Otero et al., une étude basée sur la culture publiée en 1999, avait pour objectif de concevoir une probiotique à usage vétérinaire chez les vaches pour rétablir un microbiome vaginal optimal. Des échantillons collectés pendant les phases proestrus, oestrus, metestrus et diestrus au cours de deux cycles en 15 génisses Nellore Hereford. Ils ont constaté qu'un nombre total d'aérobies et d'anaérobies facultatifs a été maintenue à 102 et 105 UFC par échantillon pendant le cycle œstral. Des lactobacilles étaient présents en faible nombre dans les 3 phases tout en augmentant légèrement pendant la phase œstrale. Avec 100 et 102 UFC/échantillon sur tout le cycle. Sur les 34 familles de Lactobacilles, la plupart étaient hétérofermentaire. (Otero et al., 1999) De même, les entérocoques étaient à leurs niveaux les plus élevés pendant la phase d'oestrus et légèrement plus faible dans les trois phases restantes. Cependant, c'était une valeur plus élevée que celle des lactobacilles à 102 et 104 UFC/échantillon tout au long du cycle. (Otero et coll., 1999).

Des niveaux élevés de ces bactéries pendant la phase œstrale coïncideraient avec l'augmentation de œstrogènes pendant l'oestrus, comme le montre l'étude hormonale de Parish et al., 2016, car les niveaux accrus de les œstrogènes inhiberont la croissance de diverses bactéries tout en permettant à quelques-unes de rester. Donnés leurs résultats, les chercheurs ont suggéré que le développement d'un probiotique contenant des brins précis des Lactobacilles et

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

---

des entérocoques pourraient contribuer au traitement thérapeutique du tractus génital face à les infections chez les vaches laitières en post-partum (Otero, et al., 1999).

Le groupe Otero a poursuivi ses recherches pour développer une souche de probiotiques pour vaches contenant souches de Lactobacilles. Leurs résultats confirment que la création d'acide lactique par les lactobacilles est un agent antimicrobien efficace contre les bactéries pathogènes associées aux « infections aiguës (*E. coli* bovine) » et endométrite chronique (*Act. Pyogenes*) chez les vaches. (Otero et al., 2006) Tous leurs tests ont commencé *in vitro*, et certaines expériences de laboratoire sur des souris étaient prometteuses. Les expériences réelles sur les vaches n'ont pas encore été tenté. Ils sont toujours à la recherche de la variété la plus efficace et la plus résistante qui puisse adhérer aux cellules épithéliales vaginales bovines tout en étant facilement neutralisé une fois souhaité des effets inhibiteurs sont obtenus.

Une autre étude réalisée par Adjei-Fremah et al., 2018, a remarqué que les probiotiques augmentaient la production de lait et gain de poids chez les vaches et les veaux, et a eu des effets bénéfiques similaires sur d'autres ruminants. L'utilisation des lactobacilles et autres bactéries productrices d'acide offrent une protection contre les infections entériques. Ils favorisent également l'utilisation de suppléments contenant à la fois des bactéries et des levures « comme probiotiques multi-souches ». ou un effet à large spectre contre les infections. (Adjei-Fremah et al., 2018)

Pourtant, une étude de Zawistowska-Rojek et al., 2018, indique que des recherches supplémentaires doivent être menées sur les effets à long terme de l'utilisation de probiotiques. Les chercheurs ont remarqué que les micro-organismes utilisés comme probiotiques peut en fait provoquer une infection et perturber le métabolisme. De plus, une étude réalisée par Uyeno et al., 2015, recommande la prudence dans l'utilisation de ces probiotiques et prébiotiques, en particulier chez les sujets en bonne santé.

Les vaches et les veaux. Bien qu'ils aient été attribués à une augmentation de la production de lait et à une prise de poids, les effets secondaires d'une utilisation à long terme n'ont pas été entièrement évalués, pas plus que les souches précises de microbiote efficace pour l'utilisation des probiotiques a été déterminé. Les probiotiques pourraient être bénéfiques pour les veaux en mauvaise santé en modérant la diarrhée et en rétablissant un certain équilibre du tractus gastro-intestinal, mais leurs effets sur les veaux en bonne santé sont

minimes. En outre, la surconsommation de suppléments probiotiques au cours des premières étapes de la vie peut perturber l'établissement d'un microbiome intestinal sain chez les jeunes veaux. Les souches de levures probiotiques sont particulièrement peu fiables et leurs effets incohérents. Le microbiome gastro-intestinal est également relativement inconnu et leur utilisation peut s'avérer perturbatrice pour un microbiome sain (Uyeno et al., 2015). De plus, aucune recherche sur leur impact à long terme sur d'autres microbiomes, comme le vagin, ont été réalisés.

Une autre prudence concerne l'application de bactéries probiotiques efficaces pour la santé de l'intestin humain. Les ruminants, puisque ces espèces ont une physiologie et un régime alimentaire très différents, et donc des microbiomes très contrastés. Plus précisément, l'utilisation des *Lactobacilles* comme probiotiques chez les vaches est discutable, puisque la nature de cette bactérie est de revendiquer sa domination sur le microbiote résident.

De plus, les ruminants comme les vaches contiennent des quantités très infimes de *Lactobacilles* ; en fait, ces bactéries, sont trouvées en plus grande abondance chez les veaux, diminuant avec la maturité (Uyeno, et al., 2010). Par conséquent, on peut se demander pourquoi l'industrie agricole encourage avidement l'ajout de ces bactéries à un régime probiotique alimentaire pour le bétail.

### 1. 2. prébiotiques

Les prébiotiques sont un groupe de nutriments contenus dans les fibres végétales qui sont dégradés par le microbiote intestinal. Cependant ces fibres sont indigestes pour les humains, elles constituent une source de nutrition prête pour les probiotiques et le microbiote intestinal. Une étude récente de Davani-Davari et al., 2019, a révélé que les prébiotiques nourrissent le système intestinal.

Les microbiotes et que leur dégradation se traduit par des acides gras à chaîne courte (AGCC). À leur tour, ces acides sont la principale source d'énergie des cellules du côlon et favorisent donc la santé intestinale et peuvent réduire l'obésité, le diabète, la stéatose hépatique et d'autres maladies liées à l'alimentation. (Devani-Davari et al., 2019).

Toutes les plantes riches en fibres, y compris les légumes-feuilles, certains fruits, légumineuses et céréales, contiennent des prébiotiques.

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

---

Citons par exemple : les asperges, la betterave sucrière, l'ail, la chicorée, l'oignon, le topinambour, blé, miel, banane, orge, tomate, seigle, soja, pois, haricots, etc., ainsi que des algues et micro-algues (Carlson et al., 2018).

Les prébiotiques laissent des sous-produits dans la circulation sanguine, notamment des AGCC et d'autres éléments comme des antioxydants, des saccharides et des protéines, qui peuvent apporter de multiples bénéfices à tout l'organisme : Les prébiotiques peuvent augmenter la cognition générale, diminuer le processus de démence, augmenter la mémoire et aide à l'apprentissage et à l'humeur générale. Les prébiotiques peuvent également contribuer à l'absorption du calcium, augmenter la rétention d'eau, la rétention de kératine et la formation de collagène ainsi que réduire la faible densité lipoprotéines (LDL) (Devani-Davari et al., 2019)

La plupart des prébiotiques utilisés chez les bovins consistent en l'ajout d'aliments riches en fibres et de céréales pour favoriser une gain de poids. Ceux-ci doivent également être complétés par de la levure, un probiotique, pour améliorer la digestion.

Bien que la supplémentation en levure semble efficace (Uyeno et al., 2015), l'ajout de céréales et d'autres aliments à haute teneur bien que les suppléments caloriques alimentaires (comme le maïs) ont également un effet perturbateur sur le microbiome intestinal.

### 1. 3. Antibiotiques

Les antibiotiques, bien que très importants dans le traitement des maladies et des infections, ont été associés à des effets très négatifs sur le microbiote (Francino, 2016). Les antibiotiques sont, pour la plupart, non sélectif et peut donc détruire un grand nombre de bactéries bénéfiques et pathogènes.

La surutilisation d'antibiotiques provoque une dysbiose en raison d'une réduction de la biodiversité du microbiote chez la vache. Cela a à son tour un impact négatif sur la santé globale et le système immunitaire de l'hôte. Une étude récente réalisée par Zhang et al., 2019, ont constaté que ces effets peuvent provoquer ou aggraver diverses maladies, telles que : diabète, obésité, maladie inflammatoire de l'intestin, asthme, polyarthrite rhumatoïde, dépression, autisme et surinfection chez les patients gravement malades (Zhang et al., 2019).

Cette étude a également révélé que les antibiotiques ont un impact sur l'immunité de l'hôte en modifiant les métabolites bactériens.

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

---

L'exposition aux antibiotiques peut permettre aux bactéries de développer différents mécanismes pour contrer l'effet bactéricide ; une seule bactérie peut développer différents types de résistance ; ces systèmes comprennent un mode de résistance intrinsèque ou inné et le mode de résistance acquis. Parmi ceux-ci, le mécanisme qui prévaut au sein des bactéries varie selon la nature de l'antibiotique, le site cible, l'espèce bactérienne, et/ou selon que le gène de résistance fait partie du chromosome ou d'éléments mobiles tels que les plasmides ou les transposons (Imperial & Ibane, 2016; Sharma et al., 2014).

Deux éléments pertinents doivent être présents pour l'interaction antibiotique cible, tout d'abord l'antibiotique doit reconnaître la cible, et la concentration de l'antibiotique dans la cible doit être suffisante pour inhiber la croissance bactérienne. Un mécanisme de résistance conduit à l'incapacité de l'antibiotique à inhiber la croissance bactérienne en raison d'une interaction antibiotique-cible inefficace, qui peut être classée comme passive et active. Le mécanisme passif ne peut être transféré à d'autres cellules que par un transfert clonal qui implique des modifications du site cible ou une diminution de l'absorption antimicrobienne, sans affecter la structure de l'antibiotique ; cette résistance est également connue sous le nom de résistance intrinsèque. En revanche, le mécanisme actif implique la réduction de la concentration de l'antibiotique intracellulaire par modification ou dégradation de sa structure avec des enzymes par l'action de pompes d'efflux (Martínez & Baquero, 2014; Munita & Arias, 2016).

La figure 2 montre les mécanismes par lesquels certaines bactéries peuvent présenter une résistance aux antibiotiques, ce qui implique la réduction de la concentration intracellulaire d'antibiotiques par l'activation de pompes d'efflux ou par la modification de la perméabilité de la paroi cellulaire la modification de l'antibiotique par des complexes enzymatiques qui empêchent l'interaction entre l'antibiotique et la cible, la dégradation enzymatique des antibiotiques et l'altération des sites de fixation de l'antibiotique (Sharma et al., 2014).

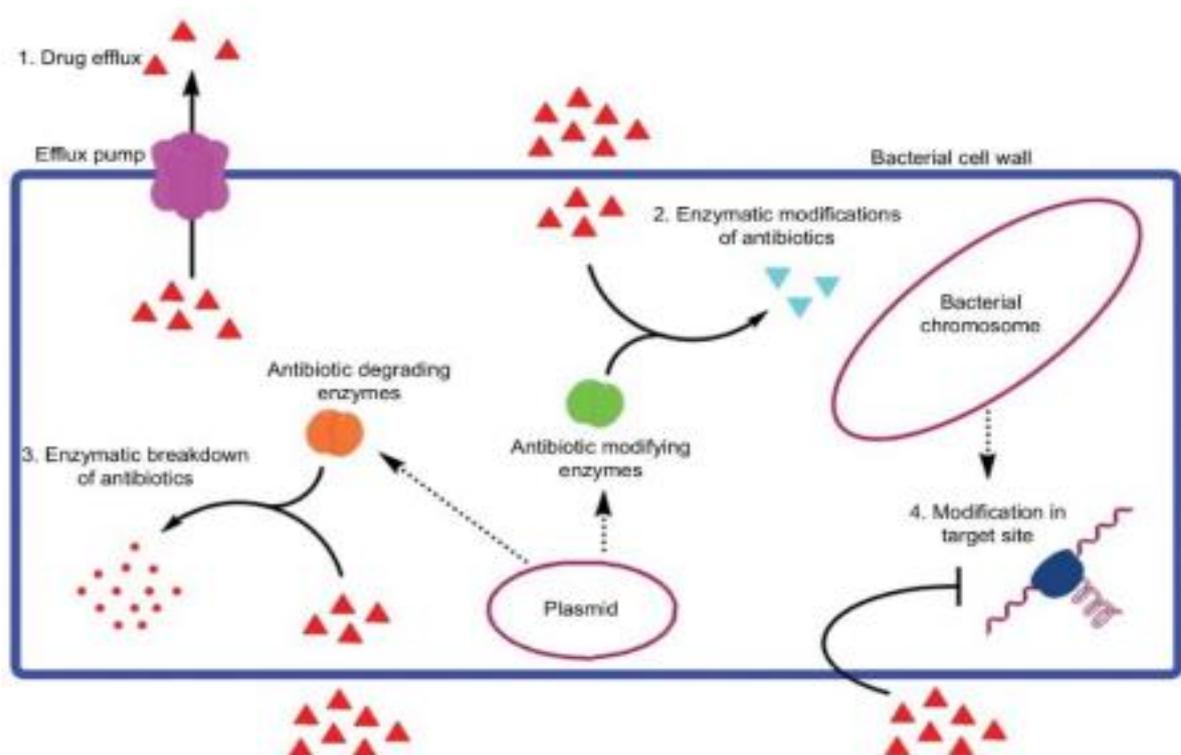
Le principal mécanisme de résistance aux antibiotiques des BL a été lié aux pompes d'efflux de multirésistances (MDR) impliquées dans l'expulsion de composés structurellement non apparentés (Mazurkiewicz et al., 2005; Gueimonde et al., 2013). Wachter-Rodarte et al., (2015) ont analysé des BL isolées du pozol (une boisson à base de maïs fermenté traditionnelle), en identifiant que les souches multirésistantes telles que *Lactococcus lactis* et

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

*Lactobacillus plantarum* présentent des pompes d'efflux actives, y compris le type ABC codé par chromosome avec le transporteur LmrA (gène *lmrA*).

D'autre part, Poelarends et al., (2002) ont démontré que la présence du transporteur LmrA dans *Lactococcus lactis* est associée à la résistance intrinsèque de 17 à 21 antibiotiques cliniquement pertinents, y compris des aminoglycosides (kanamycine et gentamicine), des lincosamides (clindamycine), des macrolides (érythromycine), des quinolones (ciprofloxacine) et des tétracyclines.

D'autres auteurs tels que Casado Muñoz et al., (2014) ont signalé que *Lactobacillus pentosus* et *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolés d'olives fermentées sont résistants aux céphalosporines, à la streptomycine et à la kanamycine en raison de la variation de la perméabilité de la paroi cellulaire comme principal mécanisme de résistance ; ils ont également souligné que les deux souches présentaient un système complexe AcrABTolC impliqué dans les pompes d'efflux MDR pour les  $\beta$ -lactamines, les fluoroquinolones, le chloramphénicol, la tétracycline, et d'autres gènes liés aux pompes de la superfamille portés par le chromosome comme *norA* et MDE (multi-drug efflux) qui confèrent une résistance au chloramphénicol et aux fluoroquinolones.



**Figure 6 :** Mécanismes de la résistance aux antibiotiques de BL : (Sharma et al., 2017).

La résistance aux aminoglycosides dans les BL n'a pas été signalée, bien que ces dernières années, les BL isolés d'origine agricole se soient révélés résistants à la gentamicine, à la kanamycine et à la streptomycine, dont le mécanisme de résistance est associé à une altération du transport ou à une inactivation enzymatique par trois principales enzymes modifiant les aminoglycosides (AME), à savoir les N-acétyltransférases (AAC), les O-phosphotransférases (APH) et les O-nucléotidyltransférases (ANT) codées par des EGM (éléments génétiques mobiles) tels que les transposons et la séquence d'insertions (Jaimee & Halami, 2015).

Certaines bactéries appartenant aux genres *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* présentent des AR intrinsèques ou innés et extrinsèques ou acquises, qui peuvent être un facteur de sécurité alimentaire car elles peuvent transmettre la résistance à d'autres bactéries par transfert vertical (entre espèces) ou horizontal (entre genres bactériens) (Clementi & Aquilanti, 2011; Gueimonde et al., 2013; Flórez & Mayo, 2017).

### 1.3.1. Résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque est la capacité naturelle ou innée d'une bactérie à survivre à l'effet des antibiotiques, à la suite de mutation dérivées de changements dans l'état physiologique de la bactérie ou d'une exposition incontrôlée aux antibiotiques (Zhang et al., 2018). La résistance intrinsèque a un potentiel de propagation minimal entre les genres bactériens, car les gènes de résistance sont situés dans le chromosome avec un transfert limité vers d'autres genres, ce qui représente un faible risque au sein des bactéries non pathogènes. Tout gène responsable de la résistance intrinsèque pourrait être disséminé et transféré à d'autres bactéries s'il est flanqué de séquences d'insertion susceptibles de favoriser sa mobilisation (Mathur & Singh, 2005). Par exemple, les souches de *Bifidobacterium* sont couramment utilisées comme cultures starter et/ou prébiotiques dans les aliments fermentés traditionnels et industrialisés.

Bien qu'elles présentent une résistance intrinsèque aux quinolones (ciprofloxacine et acide nalidixique), à la mupirocine, aux tétracyclines et aux aminoglycosides tels que la streptomycine ; cependant, tous les gènes sont situés dans le chromosome avec un transfert limité à d'autres genres (Kushiro et al., 2009; Imperial & Ibane, 2016). Il a été rapporté que certains genres de BL ont une résistance intrinsèque à la bacitracine, la vancomycine, la kanamycine, la

téicoplanine et les quinolones (Imperial & Ibana, 2016). Les mécanismes de résistance intrinsèque présentés par BL comprennent :

- Modification de la paroi cellulaire, couramment observée dans la résistance aux glycopeptides (vancomycine et téicoplanine) et aux antibiotiques non ribosomiques (bacitracine). En particulier, *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus faecium* présentent une résistance innée à la vancomycine, due à la substitution des résidus de D-alanine de la paroi cellulaire du muramyl pentapeptide par du D-lactate (résistance de haut niveau) ou de la D-sérine (résistance de bas niveau) dans la structure chimique du peptidoglycane, évitant ainsi l'interaction avec les antibiotiques (Miller et al., 2014; Munita & Arias, 2016; Zhang et al., 2018).

- L'inactivation enzymatique, comme pour les aminoglycosides (néomycine, kanamycine, streptomycine) ou les quinolones (ciprofloxacine, norfloxacine, acide nalidixique), empêche la liaison de ces antibiotiques avec leurs cibles spécifiques, comme observé pour *Lactobacillus* et *Enterococcus* pour l'ARNr 16S, 30S et l'ADN gyrase, respectivement, qui expliquent la résistance intrinsèque aux deux groupes d'antibiotiques (Clementi & Aquilanti, 2011; Jaimee & Halami, 2015).

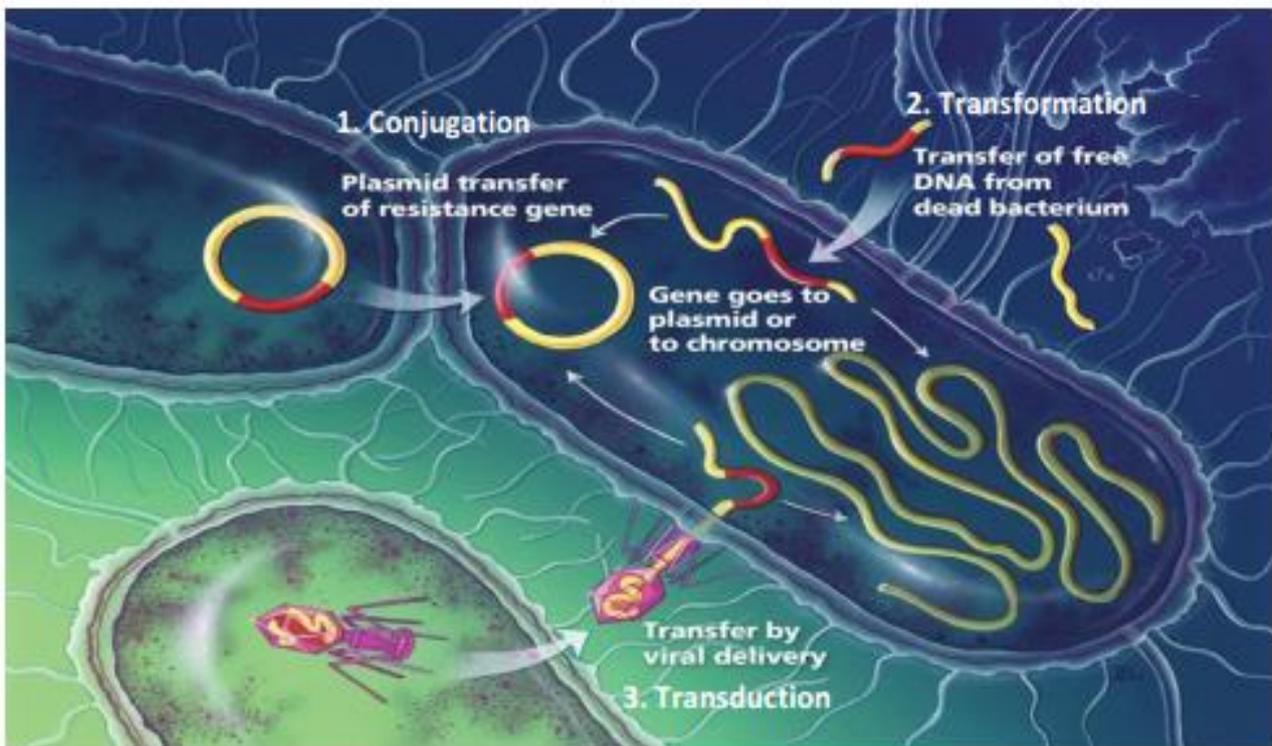
### 1.3.2. Résistance extrinsèque et transfert horizontal de gènes

La résistance extrinsèque ou acquise est celle où les bactéries peuvent incorporer dans leur structure cellulaire un matériel génétique mobil capable de conférer une résistance à certains antibiotiques. Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise ne se trouve que pour certains caractères ou certaines sous-populations bactériennes. La propagation des gènes peut se produire entre des bactéries de différents genres ou entre des organismes différents. Le transfert horizontal de gène (THG) se produit lorsque la bactérie est capable d'acquérir de nouveaux gènes qui peuvent augmenter son spectre de résistance intrinsèque, ou qu'elle peut transférer la résistance à d'autres micro-organismes ou directement aux humains ou aux animaux, ce qui est déjà considéré comme un risque sanitaire, selon l'OMS. Par conséquent, les protocoles d'analyse des gènes de résistance dans les BL sont en augmentation car ils ont une grande capacité d'acquisition de la RA et ont une relation étroite avec la transformation des aliments (Gueimonde et al., 2013; Sharma et al., 2014; Abriouel et al., 2015; Zheng et al., 2017).

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

La figure 3 montre les trois principaux mécanismes de la THG, dont certains ne sont pas considérés comme pertinents pour le transfert de la résistance aux antibiotiques dans les bactéries lactiques, par exemple la transduction (par les bactériophages) et la transformation (lorsque l'ADN est libéré d'une bactérie et absorbé par une autre), la conjugaison étant le principal mécanisme observé chez les bactéries lactiques (Mathur & Singh, 2005; Huddleston, 2014; Sharma et al., 2014; Von Wintersdorff et al., 2016).

La conjugaison est le transfert de matériel génétique mobile à partir de plasmides ou de transposons à l'aide d'un pilus sexuel (Fraqueza, 2015). Les plasmides sont des molécules d'ADN extrachromosomiques capables de se répliquer de manière autonome et qui peuvent conférer une résistance aux micro-organismes contre les antibiotiques. Ils représentent l'un des principaux éléments mobiles pour la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques contre les  $\beta$ -lactamines, les aminoglycosides, les tétracyclines, le chloramphénicol, les sulfonamides, la triméthoprime, les macrolides et les quinolones (Clementi & Aquilanti, 2011; Huddleston, 2014; Von Wintersdorff et al., 2016).



**Figure 7 :** Mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les BL Sharma et al., (2014) et de Von Wintersdorff et al., (2016).

## Chapitre 6 : Stratégies de manipulation de microbiote et leurs impact sur le microbiote vaginal

---

Les plasmides ont un grand nombre de déterminants génétiques qui peuvent conférer une résistance par conjugaison, et il est important de considérer qu'une seule bactérie peut avoir plusieurs plasmides (BrownJaque et al., 2015). Certains auteurs indiquent que la diversité génétique de la résistance est proportionnelle au nombre de plasmides présents dans l'environnement, sans oublier qu'il existe d'autres éléments mobiles tels que les transposons et les intégrons, bien que ces éléments ne s'autorépliquent pas et doivent être transportés par un plasmide ou un phage approprié (Ma et al., 2014; Brown-Jaque et al., 2015). Parmi les transposons conjugatif utilisés comme vecteurs des gènes de résistance aux antibiotiques dans les BL, on peut citer Tn916, Tn918, Tn920, Tn925, Tn2702 (*E. faecalis*), Tn5233 (*E. faecium*), Tn5276 et Tn5301 (*Lactococcus lactis*) (Sharma et al., 2014).



*Conclusion*

## Conclusion :

---

La recherche sur le microbiote est un domaine d'étude vaste et dynamique. Stratégies d'échantillonnage et culture, les méthodes ont beaucoup évolué au cours du siècle dernier, au point que les technologies et les technologies de pointe, Le séquençage de l'ADN offre désormais aux chercheurs une banque de données toujours plus large et précise. Quoi nous avons appris que les interactions et les impacts du microbiote chez l'homme peuvent être transférés, en partie, aux animaux, et plus précisément au bétail. Des scientifiques ont également commencé l'étude du microbiome vaginal chez les vaches. C'est un point crucial et une étape importante vers le maintien d'une industrie bovine rentable, car l'inefficacité de la reproduction est une grande source de perte de revenus.

Les chercheurs parviennent désormais à cartographier la grande variété de bactéries qui peuplent le vagin, tractus utérin, et certains ont étendu leurs recherches au microbiote utérin. Quelques points communs des phylums peut être constatée, tout comme certaines différences dans les populations entre les vaches gestantes et non gestantes. Encore ces recherches sont souvent disparates : Certaines études se concentrent sur les hormones, d'autres sur le microbiote, d'autres sur les Bactéries pathogènes. La plupart expérimentent actuellement des additifs ou des substituts hormonaux pour induire l'œstrus, tandis que d'autres tentent grossièrement de manipuler le microbiote avec d'autres médicaments et interventions. La plupart des recherches reposent désormais sur des protocoles de synchronisation qui cloud ou détruire la composition naturelle du microbiote des vaches. Rares sont ceux, voire aucun, qui ont pris le temps de revenir sur théoriser sur les liens entre tous ces facteurs. Il en va de même pour les études sur la nutrition et supplémentation.

Les suppléments de probiotiques et de prébiotiques remplacent rapidement l'utilisation d'antibiotiques chez le bétail industrie. Les bactéries acidifiantes et les levures fermentantes sont désormais des additifs courants dans l'alimentation, tout comme le sont les bactéries acidifiantes et les levures fermentantes. Certaines données convaincantes montrent que ces suppléments peuvent ont en effet des effets néfastes, notamment chez les jeunes veaux et chez les bovins en bonne santé. Très préoccupant sont ces chercheurs qui semblent tenter de remplacer les antibiotiques par des probiotiques, avec peu de succès.

Ce qui concerne la composition naturelle du microbiote bovin. Trop d'études semblent se concentrer sur les bactéries créatrices d'acide lactique, qui

## **Conclusion :**

---

sont importantes dans un microbiome humain sain, mais que l'on trouve en quantités infimes dans le microbiote vaginal des vaches.

Cette identification précise permet non seulement de mieux comprendre les interactions entre les microbes et leur hôte, mais aussi d'envisager des stratégies de gestion telles que l'utilisation de probiotiques pour maintenir un équilibre microbiologique optimal. En outre, elle ouvre la voie à de nouvelles recherches visant à développer des interventions personnalisées pour améliorer la santé reproductive des vaches et, par extension, la productivité globale des troupeaux bovins.

## Références Bibliographiques :

---

1. Aagaard, K. *et al.* A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One* **7**, e36466, doi:10.1371/journal.pone.0036466 (2012).
2. Adnane, M. & Chapwanya, A. A Review of the Diversity of the Genital Tract Microbiome and Implications for Fertility of Cattle. *Animals : an open access journal from MDPI* **12**, 460, doi:10.3390/ani12040460 (2022).
3. Alakomi, H. L. *et al.* Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2001-2005, doi:10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000 (2000).
4. Aldunate, M. *et al.* Vaginal concentrations of lactic acid potentially inactivate HIV. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 2015-2025, doi:10.1093/jac/dkt156 (2013).
5. Archunan, G. Reproductive enhancement in buffalo: looking at urinary pheromones and hormones. *Iran J Vet Res* **21**, 163-171 (2020).
6. Archunan, G., Rajanarayanan, S. & Karthikeyan, K. in *Neurobiology of Chemical Communication Frontiers in Neuroscience* (ed C. Mucignat-Caretta) (CRC Press/Taylor & Francis© 2014 by Taylor & Francis Group, LLC., 2014).
7. Barba, M. *et al.* Vaginal Microbiota Is Stable throughout the Estrous Cycle in Arabian Maress. *Animals : an open access journal from MDPI* **10**, doi:10.3390/ani10112020 (2020).
8. Bicalho, M. L., Machado, V. S., Oikonomou, G., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. *Vet. Microbiol.* **157**, 125-131, doi:10.1016/j.vetmic.2011.11.034 (2012).
9. Brotman, R. M. *et al.* Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. *Menopause* **21**, 450-458, doi:10.1097/GME.0b013e3182a4690b (2014).
10. Brown-Jaque, M., Calero-Cáceres, W. & Muniesa, M., 2015. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. *Plasmid*, **79**, pp.1-7. (2015)
11. Chee, W. J. Y., Chew, S. Y. & Than, L. T. L. Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microb Cell Fact* **19**, 203, doi:10.1186/s12934-020-01464-4 (2020).
12. Cunha, F. *et al.* Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows. *Theriogenology* **114**, 25-33, doi:10.1016/j.theriogenology.2018.03.016 (2018)
13. Deng, F. *et al.* The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. *J Anim Sci Biotechnol* **10**, 92, doi:10.1186/s40104-019-0401-2 (2019).
14. Dominguez-Bello, M. G. *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 11971-11975, doi:10.1073/pnas.1002601107 (2010).
15. Erginkaya, Z., Turhan, E.U. & Tatlı, D., 2018. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian journal of veterinary research*, **19**(1), p.53.
16. Esposito, G. *et al.* Characterization of metabolic and inflammatory profiles of transition dairy cows fed an energy-restricted diet. *J. Anim. Sci.* **98**, doi:10.1093/jas/skz391 (2020).
17. Forslund, K. *et al.*, 2013. Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome. *Genome Research*, **23**(7), pp.1163-69

## Références Bibliographiques :

---

18. Fraqueza, M.J., 2015. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. *International journal of food microbiology*, 212, pp.76-88.
19. Gad, G.F.M., Abdel-Hamid, A.M. & Farag, Z.S.H., 2014. Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), pp.25-33.
20. Gajer, P. *et al.* Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci. Transl. Med.* **4**, 132ra152 doi:10.1126/scitranslmed.3003605 (2012).
21. Galvão, K. in *Anim Reprod* Vol. 9 290-296 (2012).
22. Anderson, M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology* **68**, 474- 486, doi:10.1016/j.theriogenology.2007.04.001 (2007).
23. Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon, S. J. Symposium review: The uterine microbiome associated with the development of uterine disease in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102, 11786-11797, doi:10.3168/jds.2019-17106 (2019).
24. Giannattasio-Ferraz, S. *et al.* A common vaginal microbiota composition among breeds of *Bos taurus indicus* (Gyr and Nellore). *Braz. J. Microbiol.* **50**, 1115-1124, doi:10.1007/s42770-019-00120-3 (2019).
25. Gorodeski, G. I., Hopfer, U., Liu, C. C. & Margles, E. Estrogen acidifies vaginal pH by up-regulation of proton secretion via the apical membrane of vaginal-ectocervical epithelial cells. *Endocrinology* **146**, 816-824, doi:10.1210/en.2004-1153 (2005).
26. Graver, M. A. & Wade, J. J. The role of acidification in the inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by vaginal lactobacilli during anaerobic growth. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **10**, 8, doi:10.1186/1476-0711-10-8 (2011).
27. Gueimonde, M., Sánchez, B., de los Reyes-Gavilán, C.G. & Margolles, A., 2013. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology* , 4, p.202.
28. Hoang, T. *et al.* The cervicovaginal mucus barrier to HIV-1 is diminished in bacterial vaginosis. *PLoS Pathog.* **16**, e1008236, doi:10.1371/journal.ppat.1008236 (2020).
29. Huttenhower, C. *et al.* Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486, 207-14, doi:10.1038/nature11234 (2012).
30. Jeon, S. J. *et al.* Blood as a route of transmission of uterine pathogens from the gut to the uterus in cows. *Microbiome* 5, 109, doi:10.1186/s40168-017-0328-9 (2017).
31. Jeon, S. J. *et al.* Uterine Microbiota Progression from Calving until Establishment of Metritis in Dairy Cows. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 6324-6332, doi:10.1128/AEM.01753-15 (2015).
32. Karstrup, C. C., Klitgaard, K., Jensen, T. K., Agerholm, J. S. & Pedersen, H. G. Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology* 99, 41-47, doi:10.1016/j.theriogenology.2017.05.013 (2017).
33. Kraipowich, N. R., Morris, D. L., Thompson, G. L. & Mason, G. L. Bovine abortions associated with *Bacteroides fragilis* fetal infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* **12**, 369-371, doi:10.1177/104063870001200413 (2000).
34. Kushiro, A. *et al.*, 2009. Antimicrobial susceptibility testing of lactic acid bacteria and bifidobacteria by broth microdilution method and Etest. *International Journal of Food Microbiology*, 132(1), pp.54-58.
35. Lacroix, G., Gouyer, V., Gottrand, F. & Desseyn, J. L. The Cervicovaginal Mucus Barrier. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 8266, doi:10.3390/ijms21218266 (2020).

## Références Bibliographiques :

---

36. Laguardia-Nascimento, M. *et al.* Vaginal Microbiome Characterization of Nellore Cattle Using Metagenomic Analysis. *PLoS One* **10**, e0143294, doi:10.1371/journal.pone.0143294 (2015).
37. Leclaire, S., Jacob, S., Greene, L. K., Dubay, G. R. & Drea, C. M. Social odours covary with bacterial community in the anal secretions of wild meerkats. *Sci. Rep.* **7**, 3240, doi:10.1038/s41598-017-03356-x (2017).
38. Leclaire, S., Nielsen, J. F. & Drea, C. M. Bacterial communities in meerkat anal scent secretions vary with host sex, age, and group membership. *Behav. Ecol.* **25**, 996-1004, doi:10.1093/beheco/aru074 (2014).
39. Lin, Y. *et al.* Postpartum Uterine Involution and Embryonic Development Pattern in Chinese Holstein Dairy Cows. *Front Vet Sci* **7**, 604729, doi:10.3389/fvets.2020.604729 (2020).
40. Mahalingam, S., Dharumadurai, D. & Archunan, G. Vaginal microbiome analysis of buffalo (*Bubalus bubalis*) during estrous cycle using high-throughput amplicon sequence of 16S rRNA gene. *Symbiosis* **78**, 97-106, doi:10.1007/s13199-018-00595-y (2019).
41. Manes, J. *et al.* Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Rumin. Res.* **94**, 201-204, doi:10.1016/j.smallrumres.2010.07.021 (2010).
42. Mater, D.D.G., Langella, P., Corthier, G. & Flores, M.J., 2007. A Probiotic *Lactobacillus* Strain Can Acquire Vancomycin Resistance during Digestive Transit in Mice. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, **14**(1-3), pp.123-27.
43. Mathur, S. & Singh, R., 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *International Journal of Food Microbiology*, **105**(3), pp.281-95.
44. Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O. & Kasper, D. L. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* **122**, 107-118, doi:10.1016/j.cell.2005.05.007 (2005).
45. Messman, R. D., Contreras-Correa, Z. E., Paz, H. A., Perry, G. & Lemley, C. O. Vaginal bacterial community composition and concentrations of estradiol at the time of artificial insemination in Brangus heifers. *J. Anim. Sci.* **98**, doi:10.1093/jas/skaa178 (2020).
46. Miller, E. A., Beasley, D. E., Dunn, R. R. & Archie, E. A. Lactobacilli Dominance and Vaginal pH: Why Is the Human Vaginal Microbiome Unique? *Front. Microbiol.* **7**, 1936, doi:10.3389/fmicb.2016.01936 (2016).
47. Miller, W.R., Munita, J.M. & Arias, C.A., 2014. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert review of anti-infective therapy*, **12**(10), pp.1221-36.
48. Miranda-CasoLuengo, R. *et al.* Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endometritis. *PLoS One* **14**, e0200974, doi:10.1371/journal.pone.0200974 (2019).
49. Moore, S. G., Ericsson, A. C., Pooch, S. E., Melendez, P. & Lucy, M. C. Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *J. Dairy Sci.* **100**, 4953-4960, doi:10.3168/jds.2017-12592 (2017).
50. Nardini, P. *et al.* *Lactobacillus crispatus* inhibits the infectivity of *Chlamydia trachomatis* elementary bodies, in vitro study. *Sci. Rep.* **6**, 29024, doi:10.1038/srep29024 (2016).
51. Nicholas, R., Ayling, R. D. & McAuliffe, L. *Mycoplasma diseases of ruminants: disease, diagnosis and control.* (CAB International, Oxfordshire, 2008).

## Références Bibliographiques :

---

52. Kovachev, S. Defence factors of vaginal lactobacilli. *Crit. Rev. Microbiol.* **44**, 31-39, doi:10.1080/1040841x.2017.1306688 (2018).
53. O'Hanlon, D. E., Moench, T. R. & Cone, R. A. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One* **8**, e80074, doi:10.1371/journal.pone.0080074 (2013).
54. Otero, C. *et al.* Lactobacilli and Enterococci Isolated from the Bovine Vagina During the Estrous cycle. *Anaerobe* **5**, 305-307, doi:10.1006/anae.1999.0245 (1999).
55. Otero, C. *et al.* Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Lett. Appl. Microbiol.* **31**, 251-254, doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00809.x (2000).
56. Parkinson, T. in veterinary reproduction and obstetrics (eds D E Noakes, TJ Parkinson, & G C W England) Ch.15, 391-581 (Elsevier, 2009).
57. Pascottini, O. B. *et al.* Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Sci. Rep.* **10**, 12353, doi:10.1038/s41598-020-69317-z (2020).
58. Perry, G. A. & Perry, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* **34**, 333-338, doi:10.1016/j.domaniend.2007.09.003 (2008).
59. Preethi, C., Thumu, S.C.R. & Halami, P.M., 2017. Occurrence and distribution of multiple antibiotic-resistant Enterococcus and Lactobacillus spp. from Indian poultry: in vivo transferability of their erythromycin, tetracycline and vancomycin resistance. *Annals of Microbiology*, 67(6), pp.395–404.
60. Quadros, D. L. *et al.* Study of vaginal microbiota of Holstein cows submitted to an estrus synchronization protocol with the use of intravaginal progesterone device. *Res. Vet. Sci.* **131**, 1-6, doi:10.1016/j.rvsc.2020.03.027 (2020).
61. Rodrigues, N. F. *et al.* Qualitative analysis of the vaginal microbiota of healthy cattle and cattle with genitaltract disease. *Genet. Mol. Res.* **14**, 6518-6528, doi:10.4238/2015.June.12.4 (2015).
62. Romero, R. *et al.* The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* **2**, 4, doi:10.1186/2049-2618-2-4 (2014).
63. Sankar, R. & Archunan, G. Flehmen response in bull: role of vaginal mucus and other body fluids of bovine with special reference to estrus. *Behav. Processes* **67**, 81-86, doi:10.1016/j.beproc.2004.02.007 (2004).
64. Santos, T. M. A., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cow. *J. Vet. Med. Ser. A* **32**, 368–380 (2011).
65. Sawyer, G. J. Observations on the Bacterial Population of the Os Cervix of the Ewe before and after Embryo Death. *Aust. Vet. J.* **53**, 542-544, doi:10.1111/j.1751-0813.1977.tb07942.x (1977).
66. Sharma, P. *et al.*, 2014. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, **57**, pp.176-95.

## Références Bibliographiques :

---

67. Sheldon, I. M. & Dobson, H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 295-306, doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.006 (2004).
68. Santos, T. M. A., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cow. *J. Vet. Med. Ser. A* **32**, 368–380 (2011).
69. Sheldon, I. M., Cronin, J. G. & Bromfield, J. J. Tolerance and Innate Immunity Shape the Development of Postpartum Uterine Disease and the Impact of Endometritis in Dairy Cattle. *Annual review of animal biosciences* **7**, 361-384, doi:10.1146/annurev-animal-020518-115227 (2019).
70. Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. & Dobson, H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.* 148, 172-175, doi:10.1136/vr.148.6.172 (2001).46
71. Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N., Pfeiffer, D. U. & Dobson, H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* **123**, 837-845 (2002).
72. Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N., Nash, D. M. & Herath, S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet. J.* **176**, 115-121, doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.031 (2008).
73. Shpigel, N. Y. *et al.* Characterization and identification of microbial communities in bovine necrotic vulvovaginitis. *Vet. J.* **219**, 34-39, doi:10.1016/j.tvjl.2016.12.002 (2017).
74. Singh, J. *et al.* Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. *Biotechnology journal* 4, 480-494, doi:10.1002/biot.200800201 (2009).
75. Smith, S. B. & Ravel, J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J. Physiol.* **595**, 451- 463, doi:10.1113/JP271694 (2017).
76. Srinivasan, M., Adnane, M. & Archunan, G. Significance of cervico-vaginal microbes in bovine reproduction and pheromone production - A hypothetical review. *Res. Vet. Sci.* 135, 66-71, doi:10.1016/j.rvsc.2021.01.003 (2021).
77. Swartz, J. D. *et al.* Characterization of the Vaginal Microbiota of Ewes and Cows Reveals a Unique Microbiota with Low Levels of Lactobacilli and Near-Neutral pH. *Front Vet Sci* 1, 19, doi:10.3389/fvets.2014.00019 (2014).
78. Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C. S. & Cone, R. A. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Res. Microbiol.* 168, 782-792, doi:10.1016/j.resmic.2017.04.001 (2017).
79. Taha, T. E. *et al.* Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. *AIDS* **12**, 1699-1706, doi:10.1097/00002030-199813000-00019 (1998)
80. Tang, G., Kitten, T., Munro, C. L., Wellman, G. C. & Mintz, K. P. EmaA, a potential virulence determinant of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in infective endocarditis. *Infect. Immun.* 76, 2316-2324, doi:10.1128/IAI.00021-08 (2008).
81. Ulrich, D. *et al.* Regional variation in tissue composition and biomechanical properties of postmenopausalovine and human vagina. *PLoS One* **9**, e104972, doi:10.1371/journal.pone.0104972 (2014).

## Références Bibliographiques :

---

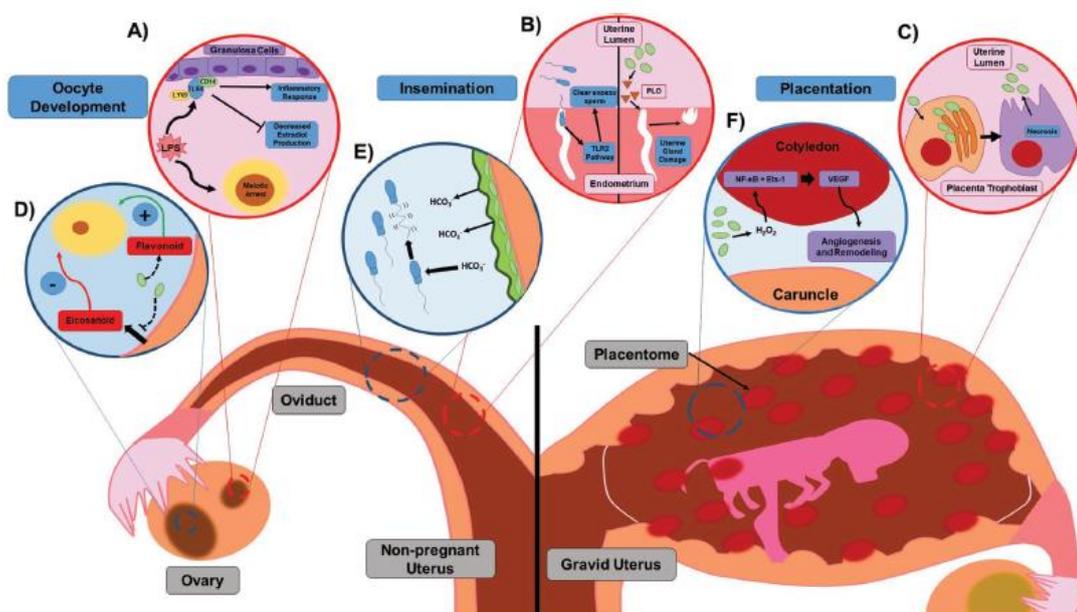
82. Valore, E. V., Park, C. H., Igteti, S. L. & Ganz, T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **187**, 561-568, doi:10.1067/mob.2002.125280 (2002).
83. van der Burgt, G., Clark, W., Knight, R. & Colles, K. Cattle fertility problems and *Histophilus somni*. *Vet. Rec.* **160**, 600, doi:10.1136/vr.160.17.600 (2007).
84. Verraes, C. et al., 2013. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, (2013)
85. Wexler, H. M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 593-621, doi:10.1128/CMR.00008-07 (2007).
86. Williams, E. J. et al. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology* **68**, 549-559, doi:10.1016/j.theriogenology.2007.04.056 (2007).
87. Zhang, S. et al., 2018. D-Alanyl-D-Alanine Ligase as a Broad-HostRange Counterselection Marker in Vancomycin-Resistant Lactic Acid Bacteria. *Journal of Bacteriology*, (2013)

### Mécanismes d'interaction entre bactéries et tractus génital de la vache laitière

Bien que la présence de bactéries ait été caractérisée tout au long de l'appareil reproducteur femelle de plusieurs espèces dont les bovins, il n'a pas encore été décrit comment ces bactéries pouvaient interagir avec l'hôte.

Cette revue bibliographique menée par des scientifiques de l'Université de Virginie (USA) visait à résumer les connaissances établies en ce qui concerne les bactéries pathogènes et non pathogènes dans divers segments de l'appareil reproducteur de la vache notamment, et les éventuels mécanismes sous-jacents aux interactions hôte-microbe pendant la gamétogenèse et au début de la gestation.

La figure ci-dessous récapitule les interactions des agents pathogènes (A – C) et non pathogènes (D – F) avec le microbiome de l'appareil reproducteur chez l'animal hôte



**(A) Développement des ovocytes :** les lipopolysaccharides d'*Escherichia coli* dans l'utérus envahissent les follicules dominants, provoquant une réponse inflammatoire et diminuant la production d'estradiol.

**(B) Insémination :** les glandes utérines sont endommagées par la pyolysine (PLO) de *Trueperella pyogenes*, ce qui pourrait entraver la bonne fixation de l'embryon.

**(C) Placentation :** *Brucella*, *Listeria* ou *Campylobacter* empruntent la circulation sanguine vers les placentomes dans l'utérus. Ils envahissent ensuite

les trophoblastes placentaires et se répliquent, provoquant la nécrose du trophoblaste et la propagation de l'agent pathogène dans tout l'utérus.

**(D) Développement des ovocytes :** les lactobacilles identifiés dans le liquide folliculaire pourraient sécréter des flavonoïdes, qui ont été associés à une compétence accrue des ovocytes, tout en diminuant la sécrétion des eicosanoïdes, qui ont été liés à une diminution de la qualité des ovocytes.

**(E) Capacitation :** *Lactobacillus delbrueckii* dans l'utérus et le vagin a la capacité de produire du  $\text{HCO}_3^-$ . Cela peut améliorer le gradient ionique nécessaire à la capacitation des spermatozoïdes, augmentant ainsi la quantité de spermatozoïdes aptes à féconder.

**(F) Placentation :** les lactobacilles, streptocoques et entérocoques isolés dans l'utérus ont été associés à une augmentation du succès de la gestation ; ils produisent  $\text{H}_2\text{O}_2$ , qui pourrait augmenter le taux d'angiogenèse et ainsi la placentation.

Cette revue bibliographique fait l'état des lieux sur les relations entre bactéries du tractus génital et les différentes étapes de la gamétogénèse et du début de gestation. Des bactéries pathogènes utérines tels que *E. coli*, *T. pyogenes* et *F. necrophorum* peuvent causer des dommages sur le site d'infection et avoir ainsi une influence négative sur les ovulations ultérieures. Inversement, des bactéries lactiques comme les *Lactobacillus* semblent être bénéfiques au niveau de plusieurs zones de l'appareil reproducteur : elles ont été associées à une amélioration de la qualité des ovocytes et agissent favorablement au cours de l'angiogenèse placentaire.