



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 : Tahar el Tsouri Zohra

Thème

*Evaluation de la Susceptibilité des Souches
Bactériennes Isolées du Tractus Génital
de la Vache (Etude Bibliographiques)*

Soutenu le : 27/06/2024

Jury:

Grade

Président : Abdelhadi Si Amuer

PR

Encadrant: Adnane Mounir

MCA

Examineur: Smail Nasreddi, e Larbi

MCB

Remerciements

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

Je souhaite également exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de thèse **Dr. Adnane Mounir** à l'université Ibn khaldoun de Tiaret , Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, Pour sa gentillesse, sa patience, sa disponibilité et ses conseils, son aide ,son collaboration , son soutien Qu'il trouve ici le témoignage de mes reconnaissances. Mes plus sincères et respectueux remerciements.

Je tiens à remercier les membres du jury PR. **Abdelhadi Si Amuer , DR. Smail Nasreddi,e Larbi**

Qui ont évalué la qualité de ce travail en endossant le rôle des examinateurs Merci pour le temps que vous avez consacré à la lecture et à l'appréciation de ce manuscrit.

Je tenais à remercier **Dr Rzzak Chahrazade** J'ai beaucoup appris à tes côtés. Merci pour son soutien, son aide et ses conseils.

Dédicace

Ce travail est dédié tout particulièrement :

À mes chers parents **Miloud et Fatima**, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs sacrifices sans fin. Leur confiance en moi et leur encouragement ont été les piliers de ma réussite.

À mes chers frères : **Mohamed, Bilal, Ismail et Abdillah.**

À mes cousines : **Sara, Fatima Zahra, Marwa, Fatma, kholoud et Nour el houda.**

À ma merveilleuse copine **Firdaws**, chaque moment avec toi est un cadeau précieux. Ta douceur, ta gentillesse et ton amour illuminent ma vie chaque jour.

À mes chères amies **Marwa, Anaïs, Wassila, Nesrine et Rihab el houda**, compagnons de joie et de soutien à travers les hauts et les bas de la vie. Votre amitié est un cadeau précieux que je chéris profondément. Merci d'être toujours là.

Je tiens à remercier mes camarades du groupe 9 aussi c'était une très belle expérience merci pour votre compréhension et soutien.

A tous mes collègues de promotions 2019-2024.

À notre cher peuple palestinien, À ceux qui endurent des épreuves inimaginables avec une résilience et une dignité qui inspirent le monde entier, À ceux qui continuent de lutter pour la justice, la liberté et la dignité humaine dans des circonstances souvent injustes et difficiles, À ceux qui restent forts malgré les défis quotidiens, qui maintiennent vivante l'étincelle de l'espoir même dans les moments les plus sombres, À ceux qui aspirent à un avenir où chaque personne peut vivre en paix et en sécurité sur sa terre, votre courage et votre résistance sont une source d'inspiration pour nous tous. Puissent vos aspirations pour la paix et la justice devenir réalité. Avec respect et solidarité.

Enfin, à toutes les personnes qui croient en moi et qui m'ont inspiré à donner le meilleur de moi-même, cette réussite est aussi la leur..

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des Figures

Résumé

Introduction Générale.....	1
<i>CHAPITRE 1 : Anatomie et physiologie De l'appareil Génital Femelle</i>	
1. Anatomie.....	4
1.1. Ovaires.....	4
1. 2. Tractus Génital.....	5
1.2.1. Oviducte ou trompe utérine.....	5
1.2.2. Utérus ou matrice.....	6
1.2.3. Col de l'utérus.....	7
1.2.4. Vagin.....	7
1.2.5. La vulve.....	7
2. Le cycle œstral.....	8
2.1. Pro-œstrus.....	8
2.2. Œstrus.....	8
1.3. Metoestrus.....	8
1.4. Dioestrus.....	8
<i>CHAPITRE 2: l'infection du tractus génital</i>	
1. Définir les maladies de l'appareil reproducteur post partum.....	10
2. Conséquences reproductives et économiques des maladies utérines.....	10
3. Pathogénèse de la maladie de l'appareil reproducteur post partum.....	11
4. Infection bactérienne.....	12
5. Immunité utérine.....	13
5.1. Immunité innée dans l'endomètre et reconnaissance des agents pathogènes...	14
5.2. Immigration de cellules effectrices dans l'utérus après un contact avec un agent pathogène.....	16
5.3. Régulation de l'immunité utérine.....	16
6. Métrite puerpéral.....	19
6.1. Définition.....	19

6.2. Symptômes.....	19
6.3. Facteurs prédisposant.....	19
6.4. Complications.....	20
6.5. Traitement de la métrite puerpérale.....	20
7. Endométrite clinique.....	20
7.1. Définition.....	20
7.2. Symptômes.....	21
7.3. Facteurs prédisposant.....	21
7.4. Complications.....	22
7.5. Traitement de l'endométrite clinique.....	22
8. Endométrite subclinique.....	22
8.1 Définition.....	22
8.2. Symptômes.....	22
8.3. Facteurs prédisposant.....	22
8.4. Complications.....	23
8.5. Traitement de l'endométrite subclinique.....	23
9. Pyomètre.....	23
9.1. Définition.....	23
9.2. Symptômes.....	24
9.3. Facteurs prédisposant.....	24
9.4. Complications.....	24
9.5. Traitement de Pyomètre.....	25
<u>CHAPITRE 3 :Les microbiologies des tractus génitaux</u>	
1. Le tractus génital contient un microbiote dynamique.....	27
2. Importance du microbiome génital.....	27
3. Origine du microbiome génital.....	27
4. Diversité du microbiome génital.....	29
4.1. Vagin.....	29
4.2. Utérus.....	32
5. Facteurs affectant la diversité du microbiome génital.....	32
5.1Facteurs intrinsèque.....	32
5.1.1Espèces.....	32

5.1.2. Race.....	33
5.1.3. Mode de livraison.....	33
5.1.4. Cyclicité œstrale.....	34
5.1.5. Gestation.....	34
5.1.6. Post-partum.....	35
5.2. Facteurs extrinsèques.....	36
5.2.1. Nutrition.....	36
5.2.2. Pathologies génitales.....	36
6. Dysbiose et perturbation du microbiome génital.....	37
7. Microbiome du tractus génital et probiotiques.....	38
8. Microbiome du tractus génital et prébiotiques.....	40
<u>CHAPITRE 4: Diagnostic Microbiologique des affections utérines</u>	
A. Méthodes de prélèvements.....	42
1. Examen Bactériologie.....	42
Principe.....	42
Matériels.....	43
Méthode.....	43
B. Les milieux des cultures.....	44
1. Définition.....	44
2. Préparation des milieux.....	44
2.1. Considérations générales.....	44
2.2. Milieu de Chapman.....	44
1.3. Milieu de Mac Conkey.....	45
2.4. Baird Parker.....	45
C. Technique de la culture bactérienne.....	45
1. Technique de l'ensemencement.....	45
2. Techniques d'isolement.....	46
3. Purification.....	46
D. Méthodes d'identification des microorganismes.....	46
1. Identification de gram.....	46
1.1. La coloration de Gram.....	46
1.2. Les tests biochimiques.....	46
1.2.1 Teste de fermentation de la Mannitol – mobilité.....	46

1.2.2 Test de citrate de Simmons.....	47
1.2.3 Teste décarboxylase ODC, LDC, et des di hydrolase ADH bactérienne.....	47
1.2.4 Teste TSI (triple Sugar Iron).....	47
1.2.5. Test d'oxydase.....	47
1.2.6 Test de catalase	48
1.3. Galeries API.....	48
1.3.1. Définition.....	48
1.3.2. Choix de la galerie.....	48
1.3.3. Technique.....	49
E. Antibiogramme.....	49
1. Définition.....	50
2. But et principe.....	50
3. La standardisation.....	50
4. Etude de la sensibilité des souches antibiotique.....	50
5. Interprétation des résultats.....	51
Conclusion	53
Référence Bibliographies	55
Introduction Générale.....	

Liste d'abréviation

RTT	Récepteurs de type Toll
PNN	Les polynucléaires neutrophiles
LPS	Lipopolysaccharide
PGF	prostaglandines F
PGE	prostaglandines E
PTPRC	protéine tyrosine phosphatase, récepteur de type C
RPGE2	Récepteurs de prostaglandine E2
RPGE4	Récepteurs de prostaglandine E4
IGF1	Insulin growth factor1
BoHV-4	Herpes virus bovine de type 4
AMP	Les peptides antimicrobiens
JPP	Jours postpartum
LH	Hormone lutéinisante
FSH	Hormone de stimulation folliculaire
ADN	Acide désoxyribonucléique
ODC	L'ornithine décarboxylase
LDC	Lysine décarboxylase
ADH	Arginine di-hydrolase
TSI	Triple Sugar Iron
API	Analytical Profile Index
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
O2	Dioxygène

Liste des tableaux

Tableau N° 01: Les microbiomes génitaux chez les vaches sains.	29
Tableau N° 02: Les microbiomes génitaux chez les vaches atteintes par les maladies de la reproduction.	29
Tableau N° 03 : Les microbiomes génitaux non classifiés.	29
Tableau N° 04: Les microbiomes génitaux non classé	29
Tableau N° 05: Les microbiomes génitaux Au niveau des phylums.	30
Tableau N° 06 : Richesse et diversité du microbiome vaginal chez les bovins.	31

Listes des figures

Figure N° 01: Coupe médiane du Bassin d'une vache (Barone., 1990).	4
Figure N° 02 : Coupe de l'ovaire de la vache à différents stades (Drivaux et Ectore., 1985).	5
Figure N° 03: Vue dorsale de l'utérus, paroi vaginale ouverte et rabattue de la vache (Coche., 1987).	6
Figure N° 04: L'incidence des infections bactériennes et des maladies utérines chez bovins laitiers post-partum. Les bactéries peuvent être isolées de l'utérus de la plupart des vaches.	12
Figure N° 05 : Les mécanismes sous-jacents à l'infertilité associée aux maladies utérines. UN).	17
Figure N° 06 : métrite puerpéral post partum (vache) (Hanzen., 2015).	19
Figure N° 07: Écoulement trouble (Hanzen., 2015).	20
Figure N° 08: Écoulement purulent (Hanzen., 2015).	21
Figure N° 09: Métrite chronique de 3 ^{ème} degré (pyomètre) (Hanzene., 2008 - 2009).	23
Figure N° 10: pyomètre vache (Hanzene., 2008 - 2009).	24
Figure N° 11 : Origine du microbiome génital et facteurs pouvant affecter l'abondance et la diversité de la population microbienne.	28
Figure N° 12: Matériel utilisé pour le prélèvement bactériologique (Deguillaume).	43
Figure N° 13: Guide de choix de la galerie Api (A- Guide pour les bacilles Gram négatif ; B- Guide pour les bacilles Gram positif ; C- Guide pour les cocci Gram positif et négatif).	49

Résumé :

Ce travail vise à faire une étude bibliographique des souches bactérienne dans les tractus génital chez la vache. Les systèmes reproducteurs des bovins contiennent de multiples microbes résidant chez la femelle dès son plus jeune âge. Parfois, d'autres microbes nocifs peuvent envahir le tractus génital et provoquer des maladies qui altèrent la fertilité. Normalement, les microbes commensaux facilitent l'homéostasie du tractus génital. Pour cette raison, le type et le nombre de microbes présents dans le tractus génital sont importants pour la santé du système reproducteur, et toute perturbation de cet équilibre microbien entraîne des maladies génitales. Il est intéressant de noter que ces microbes peuplent fréquemment le tractus génital des vaches, entraînant des maladies de reproduction qui perturbent la fertilité. Cependant, un microbiome composé de microbes commensaux entraînera probablement le rétablissement de la santé utérine et une amélioration de la fertilité des vaches.

Mots clés: tractus ; génital; microbiote ; santé; agents pathogènes ; probiotiques; reproduction; maladie utérine.

Abstract:

The aim of this work is to carry out a bibliographical study of bacterial strains in the genital tract of cows. The reproductive systems of cattle contain multiple microbes resident in the female from an early age. Occasionally, other harmful microbes can invade the reproductive tract and cause diseases that impair fertility. Normally, commensal microbes facilitate genital tract homeostasis. For this reason, the type and number of microbes present in the genital tract are important for the health of the reproductive system, and any disruption to this microbial balance leads to genital disease. Interestingly, these microbes frequently populate the genital tract of cows, leading to reproductive diseases that disrupt fertility. However, a microbiome composed of commensal microbes is likely to lead to restored uterine health and improved fertility in cows.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة لسلاسل البكتيرية في الجهاز التناسلي للأبقار. تحتوي الأجهزة التناسلية للماشية على العديد من الميكروبات المقيمة في الأنثى منذ سن مبكر. في بعض الأحيان، يمكن أن تغزو ميكروبات أخرى ضارة الجهاز التناسلي وتسبب أمراضاً تضعف الخصوبة. وعادةً ما تسهل الميكروبات المتعايشة مع الميكروبات الأخرى استتباب الجهاز التناسلي. لهذا السبب، فإن نوع وعدد الميكروبات الموجودة في الجهاز التناسلي مهمان لصحة الجهاز التناسلي، وأي خلل في هذا التوازن الميكروبي يؤدي إلى الإصابة بأمراض الجهاز التناسلي. ومن المثير للاهتمام أن هذه الميكروبات كثيراً ما تملأ الجهاز التناسلي للأبقار مما يؤدي إلى أمراض تناسلية تعطل الخصوبة. ومع ذلك، من المرجح أن يؤدي وجود ميكرو بيوم يتكون من ميكروبات متجانسة إلى استعادة صحة الرحم وتحسين الخصوبة لدى الأبقار

Introduction Générale

Introduction Générale:

L'objectif principal de la gestion de la reproduction dans les élevages bovins laitiers est de maintenir un intervalle de vêlage optimal, adapté aux particularités de chaque exploitation. La santé de l'utérus représente un facteur essentiel dans la reproduction des bovins, notamment en raison des infections post-partum telles que la métrite et l'endométrite, qui ont un impact économique significatif sur l'industrie laitière. En Europe, ces coûts sont estimés à 1,4 milliard d'euros par an, et aux États-Unis à 650 millions de dollars (Sheldon et al., 2009). L'ampleur de la recherche, avec plus de 500 études menées au cours des 40 dernières années (Sheldon et al., 2006), souligne l'importance accordée à ces problèmes dans la littérature scientifique.

Les vaches hébergent des bactéries dans leur utérus avant même le vêlage, et un microbiome endométrial distinct se forme dans les 20 minutes suivant le vêlage. Ce microbiome présente des similarités entre les vaches développant une métrite et celles sans endométrite jusqu'au moins le deuxième jour après le vêlage. Chez les vaches développant une métrite, le microbiome présente une proportion relative plus élevée de *Bacteroidetes* et de *Fusobactéries*, et une proportion relative plus faible de *Protéobactéries* et de *Ténéricutes* (Jeon et al., 2015).

En plus, un mélange de bactéries, de protozoaires, de champignons et de virus colonise le tractus génital de diverses espèces, y compris les bovins (2020). Bien que les infections utérines soient généralement causées par des infections bactériennes mixtes, les principaux agents pathogènes microbiens impliqués comprennent *Trueperella pyogènes* (*T. pyogènes*), *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*), diverses espèces de *Bactéroïdes* et de *Prevotella* (Sheldon et al., 2004, Santo et al., 2011). Les populations microbiennes des voies génitales présentent une grande variabilité, avec les *Lactobacilles* et les *Bactéroïdes* qui dominent respectivement la flore vaginale des femmes et des vaches. L'utérus héberge un microbiome distinct, surtout pendant la gestation, lorsque le contenu cervical est isolé du contenu vaginal en raison de la présence d'un bouchon muqueux cervical pendant cette période. Le microbiote du tractus génital a attiré beaucoup d'attention ces dernières années au sein de la communauté scientifique, car il est soupçonné d'être lié à l'infertilité et aux maladies utérines. Ce microbiome joue un rôle essentiel dans le système reproducteur féminin grâce à une compétition microbienne différenciée. Les micro-organismes symbiotiques forment un biofilm qui complète le mucus cervico-vaginal, offrant ainsi une protection contre l'invasion par des agents pathogènes (Tang et al., 2008).

En outre, les microbes commensaux produisent des molécules bioactives comme l'acide lactique et des espèces réactives de l'oxygène qui inhibent la prolifération des agents pathogènes. Pendant la gestation, certaines espèces de *Lactobacillus* offrent une protection à la progéniture et sont également associées à une parturition normale (Romero et al., 2014). Des recherches récentes se sont également penchées sur d'autres aspects de la fonction reproductive des bovins influencés par le microbiome génital, tels que la production de phéromones et la signalisation sémi chimique (Srinivasan et al., 2021).

Dans cette étude nous nous concentrons sur l'origine, la diversité et l'impact clinique du microbiote chez les bovins, ainsi que sur le lien avec les risques de maladies utérines et d'infertilité. Nous examinons également comment ces données peuvent guider l'utilisation de pro et prébiotiques dans la prévention des maladies utérines.

CHAPITRE 01 :

Anatomie et physiologie De l'appareil Génital Femelle

1. Anatomie:

Le système reproducteur de la vache se trouve dans la cavité pelvienne et se divise anatomiquement en six parties principales : les ovaires, les oviductes, l'utérus (col, corps, cornes), le vagin et la vulve.

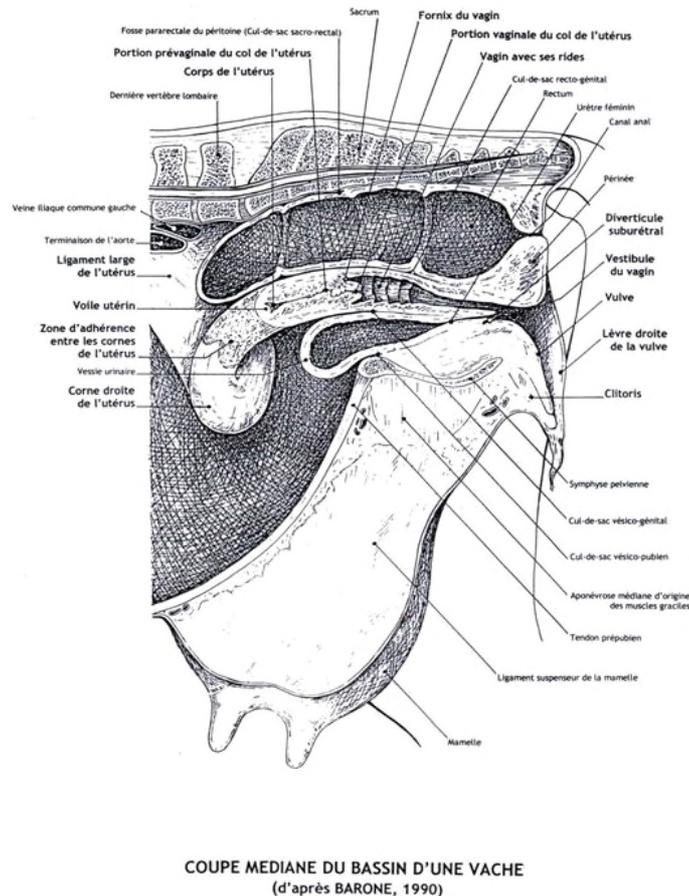


Figure N° 01: Coupe médiane du Bassin d'une vache (Barone., 1990).

1.1. Ovaires :

C'est l'organe génital de la femelle, présent en paire et situé dans la région lombaire. Il remplit deux fonctions principales : la gamétogenèse, qui comprend l'ovogenèse, et la fonction endocrine, qui régule toute l'activité génitale en sécrétant des hormones telles que les œstrogènes et les progestatifs, sous le contrôle de l'hypophyse (Barone., 1978).

Chez la vache, les ovaires sont positionnés plus bas par rapport à la région lombaire et plus près de l'entrée de la cavité pelvienne. Cette disposition varie selon que l'utérus est gravide ou non, ou selon que l'ovaire appartient à une vache qui a déjà porté ou à une vache qui n'a pas porté.

Ces organes, de la taille d'une amande, varient en volume selon l'âge et les stades du cycle œstral (Derivaux et Ectors., 1985). Chaque ovaire mesure environ 4 cm de long, 2.5 cm de large et 1.5 cm d'épaisseur (Christiandudouet., 2010). Ils ont une consistance ferme et une surface irrégulièrement bosselée due aux structures telles que les follicules à différents stades de développement et les corps jaunes. En coupant l'ovaire, on peut observer ces structures spécifiques, qui représentent l'évolution depuis le follicule primordial jusqu'au follicule mature produisant l'ovocyte. Après l'ovulation, le follicule se transforme en corps jaune, qui régresse plus ou moins rapidement en fonction de la fécondation (Derivaux et Ectors., 1985).

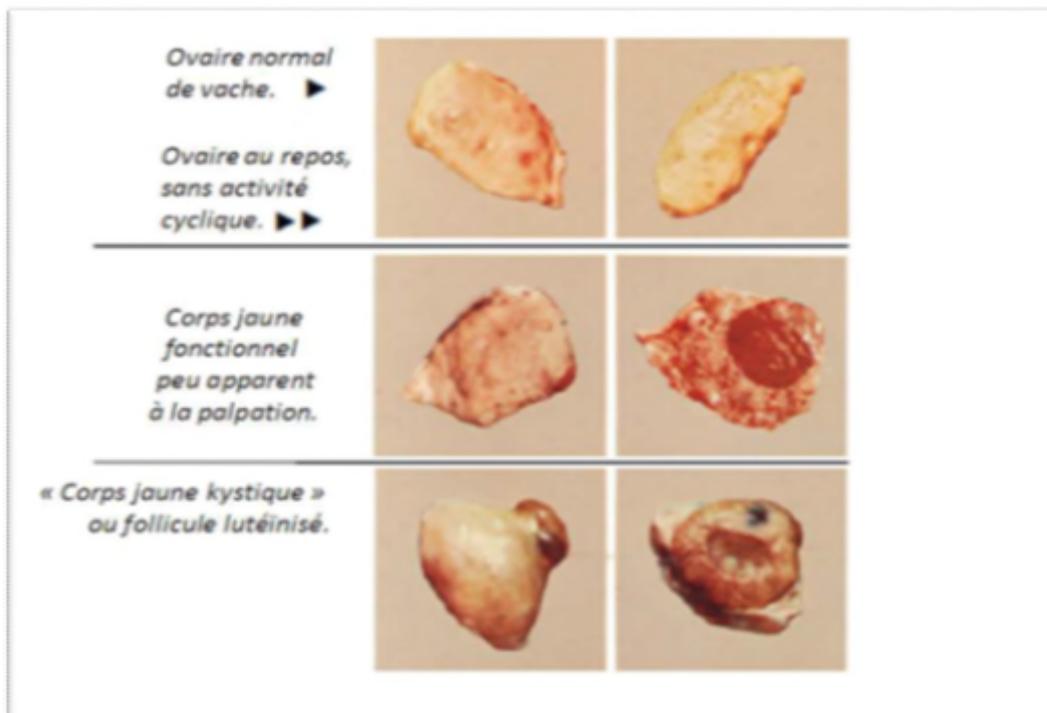


Figure N° 02 : Coupe de l'ovaire de la vache à différents stades (Derivaux et Ectore.,1985).

1.2. Tractus Génital :

1.2.1.Oviducte ou trompe utérine :

Le rôle de l'oviducte est de recueillir l'ovule et de le transporter vers l'utérus après la fécondation. Chaque ovaire est associé à un oviducte plus ou moins sinueux, situé le long du bord du ligament large.

Il commence par le pavillon ou infundibulum, une structure en forme d'entonnoir indépendante de l'ovaire, qui s'ouvre dans la bourse ovarique et peut se placer contre le bord libre de l'ovaire pour recueillir les gamètes femelles lors de l'ovulation. L'oviducte lui-même est divisé en trois parties :

- L'ampoule, où se produisent la fécondation, la rencontre et la fusion de l'ovule et du spermatozoïde ;
- L'isthme, de diamètre réduit ;
- La jonction utéro-tubaire, la zone de transition entre l'oviducte et la corne utérine.

En outre, la longueur de l'oviducte varie considérablement selon les espèces. Chez les bovins, par exemple, elle est d'environ 21 à 28 cm de longueur (Ellington., 1991).

1.2.2. Utérus ou matrice:

Chez tous les ongulés, l'utérus, organe crucial pour la gestation, se compose de trois parties distinctes :

1. Les deux cornes utérines qui, sur une distance plus ou moins importante, se rejoignent pour former le corps de l'utérus.
2. Les cornes et le corps utérins, toujours positionnés dans l'abdomen le long du bord du ligament large.
3. Le col utérin, également appelé cervix, situé au niveau du plancher de la cavité pelvienne (Batellier et al., 2005).

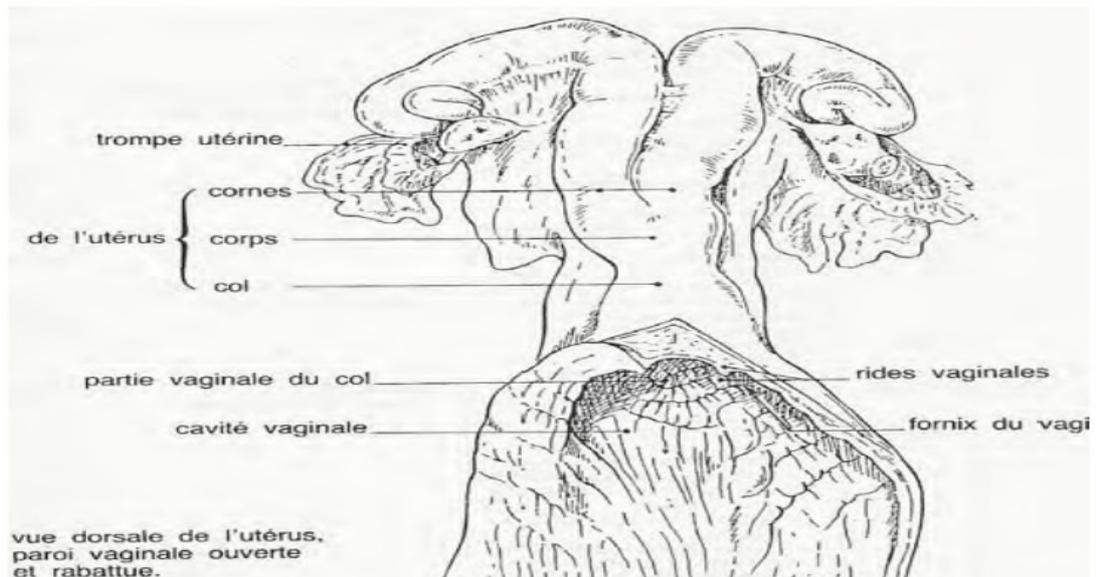


Figure N° 03: Vue dorsale de l'utérus, paroi vaginale ouverte et rabattue de la vache (Coche, 1987).

1.2.3. Col de l'utérus:

Le col de l'utérus, ou cervix, est souvent difficile à distinguer en surface. Il se distingue à peine des parties qu'il sépare, étant seulement marquées par de légères constrictions. Comparativement au corps utérin, il est généralement plus cylindrique, et sa paroi épaisse est facilement identifiable à la palpation (Barone., 1978).

1.2.4. Vagin :

Il s'agit d'un conduit impair et médian, entièrement contenu dans la cavité pelvienne, qui est en quelque sorte une extension du sinus urogénital pour former l'organe copulateur chez la femelle (Barone., 1978). C'est là que le sperme est déposé lors de l'accouplement (Baril et al., 1993).

1.2.5. La vulve:

La vulve constitue la partie externe de l'appareil génital féminin, située dans la région ventrale du périnée.

Elle est formée de deux lèvres qui délimitent la fente vulvaire. Ces lèvres se rejoignent en deux commissures : une dorsale, séparée de l'anus par ce qu'on appelait autrefois le "périnée gynécologique", et une ventrale, plus épaisse et saillante, située ventralement par rapport au bord postérieur de l'arcade ischiatique ou "mont de Vénus".

C'est au niveau de cette commissure ventrale que se trouve, sous un repli de la muqueuse, le clitoris, mesurant environ 5 à 6 mm de diamètre mais atteignant une longueur de 10 à 12 cm, ainsi que son muscle rétracteur. Chaque lèvre vulvaire est composée d'une partie cutanée externe, d'une partie muqueuse interne et d'un muscle constricteur assurant une parfaite coaptation des lèvres.

L'irrigation sanguine de la vulve est fournie par des branches de l'artère honteuse externe, tandis que son innervation provient principalement des nerfs honteux (Hanzen., 2009).

2. Le cycle œstral : Traditionnellement, le cycle œstral est divisé en quatre phases.

2.1.Pro-œstrus :

La période précédant immédiatement l'œstrus se caractérise par une augmentation significative de l'activité de reproduction. On observe une croissance folliculaire ainsi qu'une régression du corps jaune du cycle précédent.

L'utérus connaît une légère expansion, l'endomètre devient œdémateux et encombré, et ses glandes montrent des signes d'augmentation de l'activité sécrétoire. La muqueuse vaginale devient hyperhémie ; le nombre de couches de cellules de l'épithélium commence à augmenter et la superficie des couches devient carnifiée (David. Noakes et al., 2009).

2.2.Œstrus :

L'utérus, le col de l'utérus et le vagin voient leurs glandes sécréter des quantités accrues de mucus, tandis que l'épithélium et l'endomètre vaginaux deviennent hyperhémisés et congestionnés, et que le col de l'utérus se détend.

L'ovulation est un processus spontané ; chez la vache, elle survient environ 12 heures après la fin de l'œstrus.

Pendant le pro-œstrus et l'œstrus, une croissance folliculaire se produit en l'absence de corps jaunes fonctionnels, les principales hormones ovariennes produites étant les œstrogènes. Le pro-œstrus et l'œstrus sont fréquemment collectivement désignés comme la phase folliculaire du cycle (David. Noakes et al., 2009).

1.3. Metoestrus:

La phase qui suit l'œstrus est caractérisée par la transformation des cellules de granulosa du follicule ovulé en cellules lutéales, qui sont responsables de la formation du corps jaune.

Pendant cette période, on observe une réduction de la quantité de sécrétion des glandes utérines, cervicales et vaginales (David. Noakes et al., 2009).

1.4.Dioestrus :

La phase du corps jaune se caractérise par une hyperplasie et une hypertrophie des glandes utérines, un col de l'utérus serré et des sécrétions rares et collantes dans le tractus génital; la muqueuse vaginale prend une teinte plus pâle. Durant cette période, le corps jaune est pleinement fonctionnel et produit de grandes quantités de progestérone.

Cette phase du cycle œstral, lorsque le corps jaune est actif, est parfois appelée la phase lutéale pour la distinguer de la phase folliculaire (David. Noakes et al., 2009).

CHAPITRE 02:

L'infection du Tractus Génital

1. Définir les maladies de l'appareil reproducteur post partum.

Définir une infection utérine n'est pas simple, mais c'est indispensable pour établir un diagnostic précis au niveau individuel et évaluer son impact global.

Cette complexité découle de la divergence des méthodes et des critères de diagnostic, ainsi que du fait que la présence de sécrétions utérines claires après la parturition ne signifie pas automatiquement un problème pathologique. Il est crucial de différencier l'infection (un processus pathologique) de la contamination bactérienne initiale (un processus physiologique).

L'infection se caractérise par l'adhérence, la colonisation voire la pénétration des germes dans la muqueuse utérine, accompagnée éventuellement de la libération de toxines, entraînant le développement d'une pathologie utérine ou génitale, rarement mortelle (Sheldon et Dobson., 2004).

La plupart des vaches éliminent naturellement les bactéries dans les cinq premières semaines après la mise bas, mais lorsque la réponse immunitaire de l'utérus est altérée, les bactéries peuvent s'y installer, se multiplier et provoquer une infection (Lewis., 1997. Sheldon et al., 2003). Cela survient dans 10 à 17 % des cas où une infection utérine est détectée lors de l'examen génital de l'animal (Le Blanc et al., 2002. Sheldon et al., 2006).

Les infections utérines peuvent être classées en fonction de plusieurs critères, notamment leur localisation anatomique et histologique, leur délai d'apparition, les symptômes induits, leur gravité, ainsi que l'agent pathogène impliqué. Le terme "métrite" est utilisé pour décrire une affection impliquant toute la paroi utérine. (Lewis, 1997. Dumoulin., 2004). Celui de, "périmétrite" se réfère à une atteinte plus ciblée de la séreuse, tandis que "paramétrite" concerne spécifiquement les ligaments suspenseurs (Bondurant., 1999. Kennedy et Miller., 1993. Sheldon et al., 2006).

Certains utilisent le terme "endométrite stricto sensu" pour décrire des lésions limitées à l'endomètre sans extension au-delà du stratum spongiosum. Elles se manifestent généralement par des symptômes locaux qui indiquent souvent un caractère chronique, souvent associé à la présence d'*Arcanobacter pyogènes*. Son diagnostic nécessite un examen anatomopathologique. (Miller et al., 1980. Leblanc et al., 2002. Sheldon et al., 2006. McDougall et al., 2007).

2. Conséquences reproductives et économiques des maladies utérines.

Chez les bovins, le placenta doit être expulsé dans les quelques heures suivant la mise bas. Durant la première semaine après la naissance, l'utérus se contracte rapidement, permettant l'évacuation des lochies qui contiennent des résidus de membranes et de liquides fœtaux. Entre la deuxième et la quatrième semaine, le tissu endométrial endommagé se régénère, les follicules ovariens se développent en une vague, un follicule dominant est choisi, et la sécrétion d'estradiol déclenche l'ovulation, entraînant la formation d'un corps jaune pour initier un nouveau cycle ovarien (Beam et al., 1997).

Six semaines après le vêlage, le tractus génital devrait présenter que peu de signes d'une gestation suivante et être prêt à soutenir une nouvelle conception. Malgré cela, environ la moitié des vaches laitières présentent des cycles ovariens irréguliers après la mise bas.

Les animaux souffrant de pertes vaginales anormales ont une probabilité plus élevée que les animaux sans symptômes de connaître un délai dans la reprise des cycles ovariens après le vêlage (anestrus anovulatoire) ou de prolonger les phases lutéales post-partum (Opsomer et al., 2000).

Les vaches souffrant d'endométrite présentent des taux de conception environ 20 % plus bas. De plus, l'intervalle médian entre le vêlage et la conception est prolongé de 30 jours, et le pourcentage d'animaux éliminés en raison d'échecs de conception est augmenté de 3 %. Même après un traitement réussi de l'endométrite clinique, les vaches restent moins fertiles que leurs congénères du même âge, élevées dans les mêmes troupeaux et n'ayant pas souffert de maladies utérines cliniques post-partum. (Borsberry et al., 1989).

Ceci est vrai semblablement attribuable à la persistance de l'endométrite subclinique même après la disparition des symptômes cliniques. Les animaux affectés par cette maladie subclinique présentent également un nombre de jours ouverts plus élevé, mettent plus de temps à concevoir et affichent des taux de conception d'environ la moitié de ceux des animaux en bonne santé (Kasimanickam et al., 2004).

Les conséquences financières de la maladie utérine résultent de l'infertilité, de l'augmentation du taux d'abattage en cas d'échec de conception, de la diminution de la production laitière et des dépenses liées au traitement. Le coût économique d'un seul cas de métrite a été évalué à environ 292 euros (Drillich et al., 2001). Des recherches indiquent qu'il y a 24 146 000 vaches laitières dans l'Union européenne, et 8 495 000 vaches laitières aux États-Unis.

En prenant un taux d'incidence conservateur de 20 % pour la métrite (Drillich et al., 2001). Nous estimons que le coût annuel des maladies utérines s'élève à 1,4 milliard de dollars dans l'Union européenne et à 650 millions de dollars aux États-Unis. Les coûts associés à l'endométrite représentent un fardeau financier supplémentaire pour l'industrie laitière et nécessitent une évaluation précise.

3. Pathogénèse de la maladie de l'appareil reproducteur post partum :

Durant la gestation, l'utérus est stérile, mais après la parturition, la lumière utérine est presque toujours colonisée par une diversité de bactéries (Fig. 4). Cependant, le développement d'une maladie clinique est conditionné par l'équilibre entre l'immunité de l'hôte et la virulence bactérienne.

Des facteurs de risque tels que la rétention placentaire, la dystocie, les naissances gémellaires et la mortalité néonatale peuvent incliner cet équilibre en faveur de la maladie (Kim IH et al., 2000). Malheureusement, ces facteurs ne sont pas facilement sujets à des interventions visant à diminuer l'incidence de la maladie, et les éléments qui pourraient être

ciblés (comme l'hygiène des animaux ou de leur environnement) sont moins déterminants (Noakes et al., 1991).

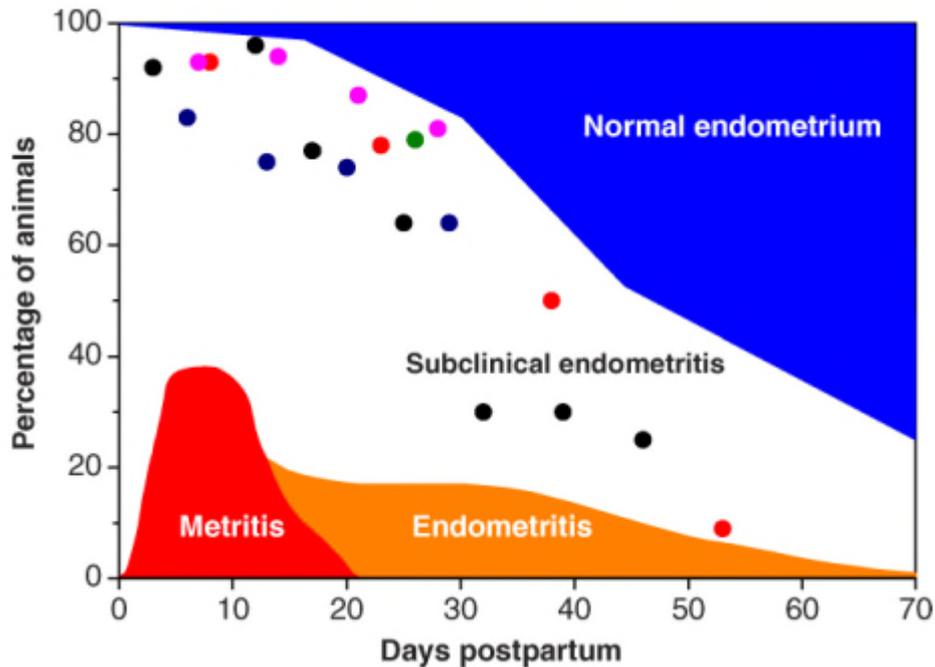


Figure N° 04: L'incidence des infections bactériennes et des maladies utérines chez bovins laitiers post-partum.

Les bactéries peuvent être isolées de l'utérus de la plupart des vaches. Pendant la période post-partum ; chaque marqueur (cercle) indique le pourcentage d'animaux avec des bactéries isolées de la lumière utérine. Les zones ombrées représentent des estimations de la proportion d'animaux atteints de métrite (rouge), d'endométrite clinique (orange) ou d'un utérus normal (bleu) ; le reste des animaux présente une endométrite subclinique (Gilbert et al., 2005).

4. Infection bactérienne :

Escherichia coli et *Arcanobacterium pyogènes* sont les bactéries les plus couramment isolées de la lumière utérine des vaches souffrant d'une maladie utérine, suivies d'une variété de bactéries anaérobies telles que des espèces de *Prevotella*, *Fusobacterium necrophorum*, et *Fusobacterium nucleatum* (Sheldon et al., 2002. Bonnett et al., 1991).

Des bactéries sont également retrouvées dans l'utérus d'animaux qui ne présentent pas de maladie clinique. En fait, la présence de *staphylocoques* à coagulase négative et de *streptocoques* hémolytiques réduit le risque d'endométrite (Williams et al., 2005). Les probiotiques pourraient ainsi être considérés à l'avenir comme une option pour prévenir les infections. L'infection de l'utérus par *E. coli* pourrait faciliter l'occurrence d'infections ultérieures par d'autres bactéries ou virus (Donofrio et al., 2008).

Par ailleurs, l'infection à *E. coli* survenant dans les premiers jours ou semaines après la parturition est liée à des conséquences négatives sur l'ovaire, l'axe hypothalamo-hypophysaire, la santé générale, ainsi que des maladies utérines.

Cependant, les lésions endométriales les plus sévères sont attribuées à *A. pyogènes* (Bonnett et al., 1991). Toutes les souches d'*A. Pyogènes* isolées de l'utérus expriment le gène de virulence *ply*, qui code pour une cytotoxine dépendante du cholestérol connue sous le nom de pyolysine. Ces molécules de cytotoxines, dépendantes du cholestérol, sont attirées vers les zones riches en cholestérol des membranes cellulaires, où elles se regroupent pour former un pore, entraînant la mort osmotique de la cellule (Jost et al., 2005).

La pyolysine détruit efficacement les cellules épithéliales et stromales de l'endomètre in vitro. De plus, *A. pyogènes*, *F. necrophorum* et certaines espèces de *Prevotella* agissent en synergie pour augmenter la probabilité et la gravité des maladies utérines (Ruder et al., 1981). *Fusobacterium necrophorum* sécrète une leucotoxine, *Prevotellamelaninogenica* produit une substance inhibitrice de la phagocytose, tandis qu'*A. Pyogènes* génère un facteur de croissance bénéfique pour *F. necrophorum*.

Il est probable que les lochies nécrotiques résultant de la rétention placentaire offrent un environnement favorable à la croissance bactérienne. De plus, les dommages tissulaires causés lors de la parturition peuvent vraisemblablement faciliter l'adhésion et l'invasion microbienne. Enfin, il est probable que les mécanismes immunitaires affaiblis ou perturbés au moment de la parturition (discutés ici) altèrent également la capacité de l'organisme à se défendre contre les microbes.

5.Immunité utérine :

La gestation chez les mammifères nécessite une régulation de l'immunité utérine pour favoriser l'implantation et la survie du fœtus semi-allogénique. Traditionnellement, on pensait que l'immunité était supprimée pendant la gestation, mais des preuves émergentes suggèrent que certains mécanismes immunitaires et inflammatoires jouent également un rôle crucial dans l'implantation chez les mammifères (Gogolin-Ewens et al., 1989).

Si les mécanismes immunosuppresseurs liés à la gestation persistent dans l'endomètre après la parturition, cela pourrait probablement prédisposer aux maladies utérines. Par conséquent, certains des rôles du système immunitaire utérin pendant la gestation pourraient être en contradiction avec la nécessité de répondre de manière coordonnée aux organismes pathogènes présents dans l'utérus après la parturition.

Pendant la moitié et la dernière phase de la gestation, des lymphocytes et des macrophages sont présents dans l'endomètre intercarunculaire chez les bovins, mais pas dans l'endomètre caronculaire (Wooding., 1992). Dans l'endomètre caronculaire des bovins, il a été observé qu'il y a une présence moins importante de CD4ème Cellules T, de cellules B, de CD14ème les macrophages, et des mastocytes par rapport à d'autres zones de l'endomètre et du myomètre (Kuther et al., 1998).

Les mastocytes jouent un rôle crucial en tant que capteurs et effecteurs lors des infections bactériennes chez les mammifères (Marshall et Jawdat., 2004). Cependant, leur fonction en réaction à la contamination bactérienne intra-utérine chez les bovins n'est pas claire. Les cellules tueuses naturelles spécifiques de l'utérus sont essentielles pour une gestation saine chez de nombreux mammifères, mais leur présence est rare en fin de gestation, et elles sont peu fréquentes dans l'endomètre bovin.

Les implications de la présence continue de ces cellules immunitaires dans les tissus après le travail chez les bovins, ainsi que leur rôle potentiel dans la régulation de la réponse inflammatoire suite à un contact avec un agent pathogène, sont en grande partie inconnues.

5.1. Immunité innée dans l'endomètre et reconnaissance des agents pathogènes :

La protection initiale de l'endomètre des mammifères contre les microbes repose sur le système immunitaire inné, incluant notamment les récepteurs de type Toll, les peptides antimicrobiens et les protéines de phase aiguë (Wira et al., 2004). Les bactéries sont détectées par des récepteurs de reconnaissance de motifs présents sur les cellules des mammifères, qui se lient à des molécules spécifiques des organismes microbiens, communément appelées motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (Beutler., 2004).

Le groupe le plus important de ces récepteurs est constitué des RTT, avec 10 membres de cette famille largement codés dans le génome des mammifères, et ils sont généralement présents dans diverses cellules immunitaires (Akira et al., 2006).

RTT1, RTT2 et RTT6 détectent les lipides bactériens tels que l'acide lipotéichoïque, tandis que RTT3, RTT7, RTT8 et RTT9 reconnaissent les acides nucléiques, souvent d'origine virale. Le lipopolysaccharide provenant de bactéries à Gram négatif comme *E. coli* se lie à la protéine de liaison au LPS et est identifié par RTT4 en association avec CD14 et LY96 (MD2), tandis que RTT5 reconnaît la flagelline. De plus, RTT9 reconnaît l'ADN bactérien.

L'activation de ces récepteurs initie des cascades de signalisation qui entraînent la synthèse et la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires, mobilisant ainsi et activant les cellules immunitaires. Cela est particulièrement corrélé à l'afflux de polynucléaires neutrophiles dans l'utérus, ce phénomène étant particulièrement marqué dans le cas de la maladie utérine bovine (Zerbe et al., 2003).

Chez les bovins normaux non gestants, l'ensemble de l'endomètre exprime RTT1 à RTT10. Avant et après la parturition, les RTT2, RTT3, RTT4, RTT6 et RTT9 sont exprimés à la fois dans l'endomètre caronculaire et intercaronculaire. Quatre à six heures après la parturition, l'expression des RTT est plus prononcée dans l'endomètre caronculaire que dans l'endomètre intercaronculaire (Ritter., 2007).

Les populations de cellules épithéliales purifiées expriment les récepteurs RTT1 à RTT7 et RTT9, tandis que les cellules stromales expriment les récepteurs RTT1 à RTT4, RTT6, RTT7, RTT9 et RTT10. Ces récepteurs semblent être fonctionnels, car les cellules épithéliales produisent de la PGE en réponse aux motifs moléculaires associés aux agents pathogènes bactériens. Les populations pures de cellules épithéliales ou stromales (non

contaminées par des leucocytes, comme en témoigne l'absence d'expression de la protéine tyrosine phosphatase, récepteur de type C [PTPRC, anciennement CD45], marqueur panleucocytaire) expriment le complexe récepteur spécifique comprenant RTT4/CD14/LY96 (MD2) pour se lier au lipopolysaccharide (LPS) (Herath et al., 2009).

L'exposition à de la chaleur ou au (LPS) provenant d'*E. Coli* induit une réponse inflammatoire chez les cellules de l'endomètre. Cette réponse se caractérise par une augmentation de l'expression de transcrits impliqués dans le facteur de nécrose tumorale, l'oxyde nitrique synthase et la prostaglandine-endoperoxyde synthase 2 (PTGS2, anciennement COX-2), ainsi que par la sécrétion de prostaglandines F (PGF) et PGE (Herath S.al.2006).L'exposition à des agents tels que la chaleur, *E. coli*, le lipopolysaccharide,*A. pyogènes*, la pyolysine, le BoHV-4, l'ADN bactérien et les lipides entraîne également une modification de la sécrétion de prostaglandines par les cellules endométriales chez les bovins. Cette stimulation favorise particulièrement la sécrétion de PGE plutôt que de PGF.

Ceci pourrait expliquer pourquoi les animaux souffrant d'une infection utérine présentent des concentrations plus élevées de LPS et de PGE dans la lumière utérine et le plasma périphérique que les animaux en bonne santé (Mateus et al., 2003).Les explants endométriaux ainsi que les cellules épithéliales et stromales ont également principalement sécrété de la PGE en réponse au LPS, et cet effet n'a pas été annulé par l'ocytocine.

Cette sécrétion de PGE induite par le LPS par les cellules de l'endomètre revêt une importance essentielle pour la fertilité, car les prostaglandines jouent de multiples rôles dans la fonction de l'endomètre, tandis que la lutéolyse est amorcée par le PGF produit par les cellules épithéliales, stimulées par l'ocytocine (Poyser., 1995).

En outre, la PGE joue un rôle crucial dans la réponse immunitaire des mammifères, agissant à travers les récepteurs de prostaglandine E2 et E4 (RPGE2 et RPGE4) pour réguler l'inflammation. Les cellules de l'endomètre bovin expriment les récepteurs RPGE2 et RPGE4 nécessaires pour répondre à la PGE (Arosh et al., 2003).

Le changement de profil de prostaglandine dans l'endomètre induit par le LPS semble intervenir précocement dans la voie de synthèse des prostaglandines. L'acide arachidonique est libéré des membranes cellulaires par les enzymes phospholipases A2 des groupes IV et VI, puis converti en prostaglandine H avant de donner naissance à la PGE ou à la PGF par l'action des synthases (Tithof et al., 2007).

Le traitement des cellules endométriales avec du LPS a entraîné une augmentation des niveaux de protéine PLA2G6, mais pas de PLA2G4, dans les cellules épithéliales. Cependant, cela n'a pas eu d'impact sur les niveaux des enzymes de synthèse de PGE ou de PGF (Herath et al., 2009).

Les peptides antimicrobiens représentent un composant ancien du système immunitaire, et la famille des défensines est particulièrement cruciale pour l'immunité des muqueuses. Le tissu utérin bovin exprime divers AMP, notamment l'AMP lingual (LAP), l'AMP trachéal (TAP), les neutrophiles bovins b-défensines (BNBD4 et DEFB5) et les b-défensines bovines (BBD19, BBD123 et BBD124) (Cormican et al., 2008).

De plus, les populations pures de cellules épithéliales de l'endomètre expriment LAP, TAP, BNBD4 et DEFB5, et leur expression est renforcée suite à un traitement au LPS. La mucine 1 (MUC1), une protéine transmembranaire glycosylée des cellules épithéliales, peut également jouer un rôle dans la défense antimicrobienne de l'endomètre chez les mammifères (Brayman et al., 2004).

MUC1 est exprimé par les cellules épithéliales de l'endomètre bovin. Son niveau d'expression a augmenté après un traitement avec du LPS. D'autre part, les protéines de phase aiguë, produites dans le foie en réponse à des cytokines pro-inflammatoires, ont montré des concentrations plasmatiques périphériques accrues au cours des premières semaines post-partum chez les bovins. Malgré cela, aucune protéine de phase aiguë n'a été détectée dans les cellules de l'endomètre bovin in vitro (Davies et al., 2008).

5.2. Immigration de cellules effectrices dans l'utérus après un contact avec un agent pathogène :

Les polynucléaires neutrophiles circulant dans le sang sont les principaux acteurs dans l'élimination des bactéries de l'utérus après le vêlage. Néanmoins, les changements hormonaux et métaboliques qui surviennent lors de la parturition chez les bovins influencent la capacité phagocytaire des PNN et la régulation génique. De surcroît, les PNN provenant du sang de vaches souffrant d'endométrite ont montré une phagocytose significativement réduite (Kim et al., 2005).

La migration vers la lumière utérine influe également sur l'activité des PNN. Par exemple, l'interleukine 8 attire les PNN vers la lumière utérine, entraînant une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par ces cellules. Cependant, une fois dans la lumière utérine, l'activité des PNN est également régulée par des facteurs solubles présents dans les sécrétions lochiales. Alors que les sécrétions lochiales des vaches en bonne santé ont un effet modéré sur l'activité des PNN, celles des vaches infectées réduisent considérablement la production d'espèces réactives de l'oxygène (Zerbe et al, 2002).

5.3. Régulation de l'immunité utérine :

Les changements hormonaux autour de la période de la parturition peuvent affecter le risque d'infections périnatal. La progestérone et les œstrogènes ont des effets immunomodulateurs, modifiant la composition et la densité des récepteurs hormonaux dans les cellules immunitaires des bovins. De plus, l'estradiol, en particulier la progestérone, diminue la sécrétion de prostaglandines par les cellules épithéliales ou stromales stimulées par le LPS. L'axe somatotrope exerce également une influence sur l'évolution de la puerpéralite chez les bovins, en régulant les niveaux plasmatiques et endométriaux du facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF1). Il convient de noter que l'IGF1, outre son rôle dans la promotion de la croissance chez les mammifères, possède également des propriétés immunomodulatrices (Clark., 1997).

En dernier lieu, diverses protéines présentes dans l'endomètre pourraient avoir un impact direct sur la réponse immunitaire ou interférer avec les voies de signalisation des stéroïdes ou de l'IGF1 au sein des cellules endométriales. Parmi celles-ci, les serpinines utérines, membres de la superfamille des inhibiteurs de sérine protéase induits par la

progestérone, semblent jouer un rôle significatif. Chez le mouton, elles ont été observées comme inhibant la prolifération des lymphocytes, ce qui suggère leur implication dans les effets immunosuppresseurs de la progestérone sur la fonction immunitaire utérine (Hansen .2007).

Une classe de protéines, appelées galectines, qui se lient aux glycanes, pourrait également jouer un rôle dans la régulation de l'immunité utérine en interagissant avec plusieurs protéines porteuses de unités b1, 4-N-acétylglucosamine sur les glycoprotéines de surface cellulaire. La galectine 1, une lectine se liant au galactoside de manière soluble, est connue pour réguler la prolifération cellulaire chez les mammifères, ainsi que la survie des cellules T effectrices et des neutrophiles, et pour favoriser leur extravasation in vivo (Stillman et al., 2006).

Un antagoniste de la galectine 1 est la galectine 3, une lectine qui se lie aux galactosides de manière soluble. Cette dernière régule l'adhésion des cellules T aux cellules endothéliales ainsi que l'interaction entre les cellules T et les cellules dendritiques ou les macrophages (Swarte et al., 1998).

LGALS1 est détecté dans les systèmes reproducteurs féminins des souris et des humains, ainsi que dans les cellules immunitaires. Chez l'homme, son expression est significativement accrue dans l'endomètre en phase tardive et dans la caduque, et elle présente une expression différentielle entre les placentas normaux et ceux présentant des altérations pathologiques (Kim et al., 2008).

Chez les bovins, on trouve LGALS3 dans l'ovaire, l'oviducte, l'utérus et le col de l'utérus, suggérant son implication dans la défense de la muqueuse. Toutefois, le rôle des galectines dans les maladies utérines post-partum nécessite une investigation approfondie (Kim et al., 2008).

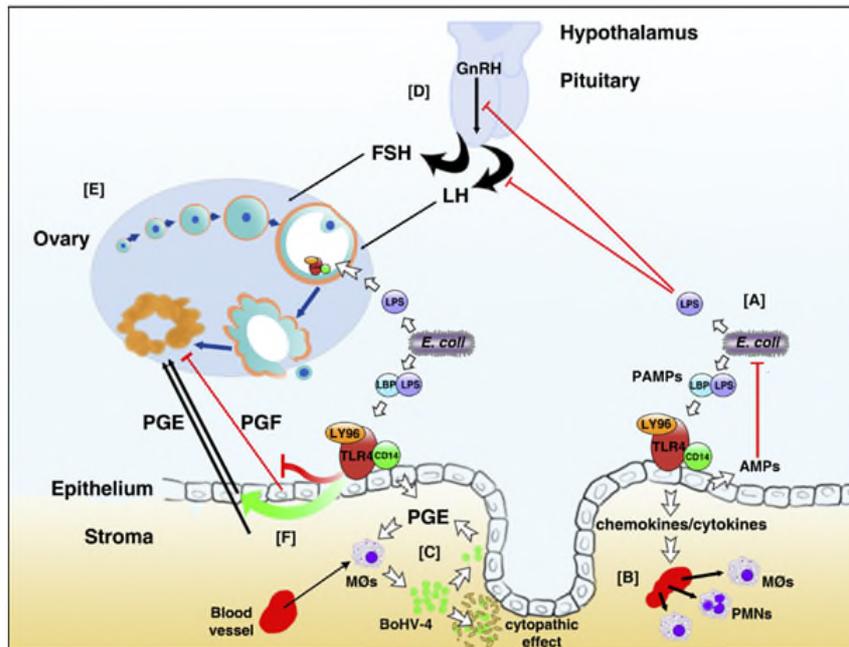


Figure N° 05 : Les mécanismes sous-jacents à l'infertilité associée aux maladies utérines. UN)

Infection bactérienne par *E. coli* et *A. pyogènes* est fréquente après la parturition. Le système immunitaire inné est alerté par les TLR des cellules endométriales qui détectent les molécules associées aux agents pathogènes (telles que l'ADN bactérien et les lipides) et *E. coli* Le LPS, qui est lié à la protéine de liaison au LPS (LBP). Les cellules de l'endomètre bovin sécrètent des cytokines et des chimiokines pour diriger la réponse immunitaire, augmenter l'expression des PAM et sécrètent principalement de la PGE plutôt que de la PGF. L'infection bactérienne provoque des lésions et une inflammation de l'endomètre, réduisant ainsi les chances de conception. B) Les cytokines et les chimiokines dirigent la réponse immunitaire. Les chimiokines attirent les neutrophiles (PNN) et les macrophages (MØs) pour éliminer les bactéries. Cependant, la fonction des neutrophiles est souvent compromise chez les bovins au moment de la parturition. On pense que la persistance des PNN dans l'endomètre en l'absence de bactéries est la principale caractéristique de l'endométrite subclinique. C) On pense que la réplication virale pourrait être stimulée dans les macrophages infectés de manière persistante par le BoHV-4 par la PGE et le LPS (34). Le BoHV-4 peut alors infecter les cellules stromales et épithéliales de l'endomètre, provoquant d'autres lésions tissulaires. D) Les concentrations d'hormone folliculo-stimulante (FSH) de l'hypophyse ne sont pas affectées par la maladie utérine, et ainsi des vagues de follicules ovariens émergent dans les premières semaines après la parturition. Cependant, la libération de GnRH par l'hypothalamus et de LH par l'hypophyse peut être supprimée par le LPS, réduisant ainsi la capacité à ovuler un follicule dominant. E) Les vaches atteintes d'endométrite ont une croissance plus lente des follicules dominants dans l'ovaire et des concentrations plasmatiques périphériques plus faibles d'œstradiol et sont donc moins susceptibles d'ovuler. Le liquide folliculaire contient du LPS chez les animaux atteints d'endométrite, les cellules de la granulosa expriment le complexe RTT4/CD14/LY96 (MD2) nécessaire à la détection du LPS, et le LPS perturbe la sécrétion d'œstradiol des cellules de la granulosa en réduisant l'expression de l'aromatase. F) Si les vaches atteintes d'endométrite ovulent, elles forment un corps jaune sécrétant de la progestérone et relancent les cycles ovariens. Cependant, les concentrations plasmatiques périphériques de progestérone sont inférieures à celles des animaux fertiles normaux. Les cytokines peuvent perturber la stéroïdogénèse des cellules lutéales. La lutéolyse est probablement perturbée et les phases lutéales sont souvent prolongées car les bactéries font passer la sécrétion épithéliale endométriale des prostaglandines de la série F à la série E.

6. Métrite puerpéral:

6.1.Définition:

C'est une maladie utérine infectieuse qui se manifeste dans les deux semaines suivant le vêlage, généralement pendant la première semaine. (Chastant., 2008).Particulièrement lorsque survient une dystocie sévère ayant nécessité une traction prolongée ou ayant causé des dommages à la vulve, cette maladie est également liée à des facteurs tels que l'inertie utérine, des parturitions prématurés incluant les avortements ou les déclenchements, des naissances multiples, ainsi que la rétention placentaire.(David E.Noakes., 2019).



Figure N° 06 : métrite puerpéral post partum (vache) (Hanzen., 2015).

6.2. Symptômes :

Les animaux affectés présentent une combinaison de symptômes locaux et généraux :

- Symptômes généraux : perte d'appétit, diminution de la production laitière, maintien ou élévation de la température corporelle ($>39,4^{\circ}\text{C}$), présence d'acétonémie, arthrites, déshydratation, déplacement de la caillette, infection mammaire, tachycardie.
- Symptômes locaux : écoulement brunâtre à purulent blanc jaunâtre, épais et malodorant (connu sous le nom de sanies), couleur lie de vin (indiquant une métrite gangréneuse causée par *Clostridium perfringens*), persistance du frémissement utérin, distension utérine.

En l'absence de symptômes généraux, on parle de métrite clinique selon Hanzen (2015).

6.3. Facteurs prédisposant :

La métrite puerpérale affecte généralement les vaches suite à des facteurs tels qu'une mauvaise hygiène, une intervention manuelle pour corriger une mauvaise présentation fœtale

ou une mauvaise posture, la gémellité, ou des causes infectieuses telles que l'avortement (par exemple, *Salmonella* spp.), la rétention des membranes fœtales, ou l'hypocalcémie. Cette maladie survient suite à l'introduction et à la multiplication bactériennes dans l'utérus, accompagnées de la production de toxines qui sont absorbées à travers l'endomètre endommagé (Philip R Scott., 2011).

6.4. Complications :

La métrite puerpérale peut entraîner une diminution de la folliculogénèse au cours des 12 premiers jours suivant le vêlage. En effet, le traitement à base d'endotoxine colibacillaire ne provoque pas l'augmentation habituelle de l'œstradiol en phase préovulatoire. Il est donc possible que la libération de cortisol induite par ce traitement inhibe la synthèse d'œstradiol, ce qui pourrait contribuer à l'augmentation de la fréquence des follicules kystiques, car la libération normale de LH est entravée (Peter et al., 1990).

6.5. Traitement de la métrite puerpérale :

Le traitement de la métrite puerpérale implique l'administration d'un antibiotique par voie générale, tel que la tétracycline ou la céphalosporine, en association avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens et éventuellement une perfusion, en fonction de l'état de l'animal. Il est également nécessaire de corriger les troubles métaboliques associés, tels que l'hypocalcémie ou l'acétonémie. La guérison peut être lente et le risque de décès n'est pas écarté. Chez certaines vaches, les écoulements peuvent disparaître spontanément, mais cela ne signifie pas pour autant une guérison complète, car des lésions utérines peuvent persister (Chastant., 2008).

7. Endométrite clinique :

7.1. Définition :

L'endométrite clinique se caractérise par la présence d'un écoulement utérin purulent (> 50% de pus) détectable dans le vagin 21 jours ou plus après la parturition, sans présenter de signes cliniques systémiques. Son incidence, variant de 10 à 40%, varie d'une ferme à une autre et d'une année à l'autre, avec une prévalence plus élevée pendant les mois d'hiver. Cette condition peut constituer une cause significative de prolongation de l'intervalle entre le vêlage et la gestation chez les vaches (Sheldon et al., 2006)



Figure N° 07: Ecoulement trouble (Hanzen., 2015).



Figure N° 08: Ecoulement purulent (Hanzen., 2015).

7.2. Symptômes :

L'endométrite clinique se caractérise par la présence d'un écoulement jaune-blanchâtre muco-purulent, dont le volume varie mais augmente souvent lors de l'œstrus, lorsque le col de l'utérus se dilate et que le mucus vaginal est abondant. Les vaches touchées ne montrent aucun signe de maladie systémique. Lors de la palpation rectale des animaux atteints d'endométrite clinique, on observe fréquemment une involution utérine retardée et un utérus qui présente une texture "pâteuse". Des corrélations ont été établies entre la taille et la texture de l'utérus et du col de l'utérus, la nature des exsudats purulents, le degré d'endométrite déterminé par biopsie, ainsi que la nature des bactéries isolées (Studer et Morrow., 1978). Cependant, la palpation rectale est désormais considérée comme une méthode peu sensible et peu spécifique pour un diagnostic précis de l'endométrite, car de nombreux autres facteurs peuvent interférer avec les changements de taille des cornes utérines post-partum (de Boer et al., 2014). Par conséquent, cette méthode ne devrait pas être privilégiée comme principal moyen de diagnostic.

7.3. Facteurs prédisposant :

La cause initiale la plus fréquente de l'endométrite est une croissance polymicrobienne de bactéries dans l'utérus autour de la période du vêlage, suivie par une prolifération d'agents pathogènes tels que *T. pyogènes*, souvent associée aux espèces *F. necrophorum* et/ou *Prevotella*. Certains agents pathogènes spécifiques peuvent entraîner une infertilité, comme *Campylobacter fetus subsp. Venerealis* et *T. fetus* (David E. Noakes., 2019).

7.4. Complications:

Une étude épidémiologique (Grohn et al., 1990) a observé un possible lien entre les endométrites cliniques et le risque de développement de kystes ovariens. De plus, la présence de lésions endométriales d'origine bactérienne (Peter et al., 1990) pourrait également entraîner un raccourcissement du cycle, attribué à une libération prématurée de prostaglandines induite par les endotoxines bactériennes (Biberstein., 1990). Cette surproduction de prostaglandines pourrait temporairement supprimer la synthèse adéquate de progestérone, pouvant potentiellement entraîner une mortalité embryonnaire précoce ou tardive, voire un avortement.

7.5. Traitement de l'endométrite clinique :

Outre la correction de la ration alimentaire, du niveau énergétique et des apports minéraux, deux traitements médicaux sont envisageables :

- Administration d'antibiotiques par voie intra-utérine : cette méthode doit être réalisée dans des conditions d'hygiène rigoureuses et sans causer de traumatismes aux voies génitales. Les antibiotiques administrés par voie générale se sont avérés inefficaces.
- Administration de prostaglandine F2alpha par voie générale : ces substances induisent la lutéolyse, entraînant le retour en chaleur de la vache. Les œstrogènes stimulent la motricité utérine et les défenses immunitaires, tandis que l'ouverture du col contribue à la vidange utérine et à l'élimination des bactéries (Chastant., 2008).

8. Endométrite subclinique :

8.1 Définition :

Ce type de métrite se caractérise par l'absence de symptômes cliniques apparents tels qu'une augmentation de la taille de l'utérus ou un écoulement visible. Les seules anomalies détectables sont généralement observées lors d'un frottis de cellules endométriales anormal (Chastant., 2008).

8.2. Symptômes :

L'endométrite subclinique se caractérise par une inflammation de l'endomètre, typiquement accompagnée de la présence de neutrophiles dans l'utérus, mais sans aucun signe évident de pus visible (David E. Noakes., 2019). La proportion de polynucléaires neutrophiles (PNN) dépasse souvent les seuils établis par le praticien, généralement d'environ 5 % des cellules dans les échantillons d'endomètre clinique, environ 35 à 40 jours après le vêlage (syndrome de Sheldon et al., 2006. De Boer et al., 2014).

8.3. Facteurs prédisposant :

Les infections entraînent également une accumulation de neutrophiles dans l'utérus. De plus, l'inflammation peut être associée à la récupération des tissus après une métrite et une endométrite clinique, un traumatisme ou d'autres affections non microbiennes. Toutefois, il n'est pas clair si l'endométrite subclinique est entièrement dépendante de la présence de germes pathogènes ou si elle résulte d'une dysrégulation de la réponse immunitaire innée même en l'absence d'agents pathogènes (David E. Noakes., 2019).

8.4. Complications :

Ce type d'infection entraîne une baisse des performances de reproduction des vaches (Sheldon et al. 2006; Kasamanickam et al. 2004; Gilbert et al. 2005; Foldi et al. 2006; Parlevliet et al. 2006). Sans traitement, la présence d'une endométrite diagnostiquée entre le 28e et le 40e jour après le vêlage grâce à un examen cytologique à l'aide d'une cytobrosse entraîne une prolongation de 25 jours de l'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante, la période d'attente étant similaire. De plus, cela s'accompagne d'une diminution de 17,9 % du taux de gestation (Barlund et al., 2008).

8.5. Traitement de l'endométrite subclinique :

Il n'existe pas de traitement spécifique pour l'endométrite subclinique, qui demeure une cause d'infertilité. Dans ce contexte, l'instillation intra-utérine d'antibiotiques le jour suivant l'insémination est une pratique recommandée (Hanzene., 2014).

9. Pyomètre:

9.1. Définition:

Le pyomètre se manifeste par l'accumulation de pus dans la cavité utérine, souvent associée à la présence d'un corps jaune fonctionnel et à une fermeture partielle ou totale du col utérin. Cette condition survient généralement après la première ovulation (Ch. Hanzene, 2016).

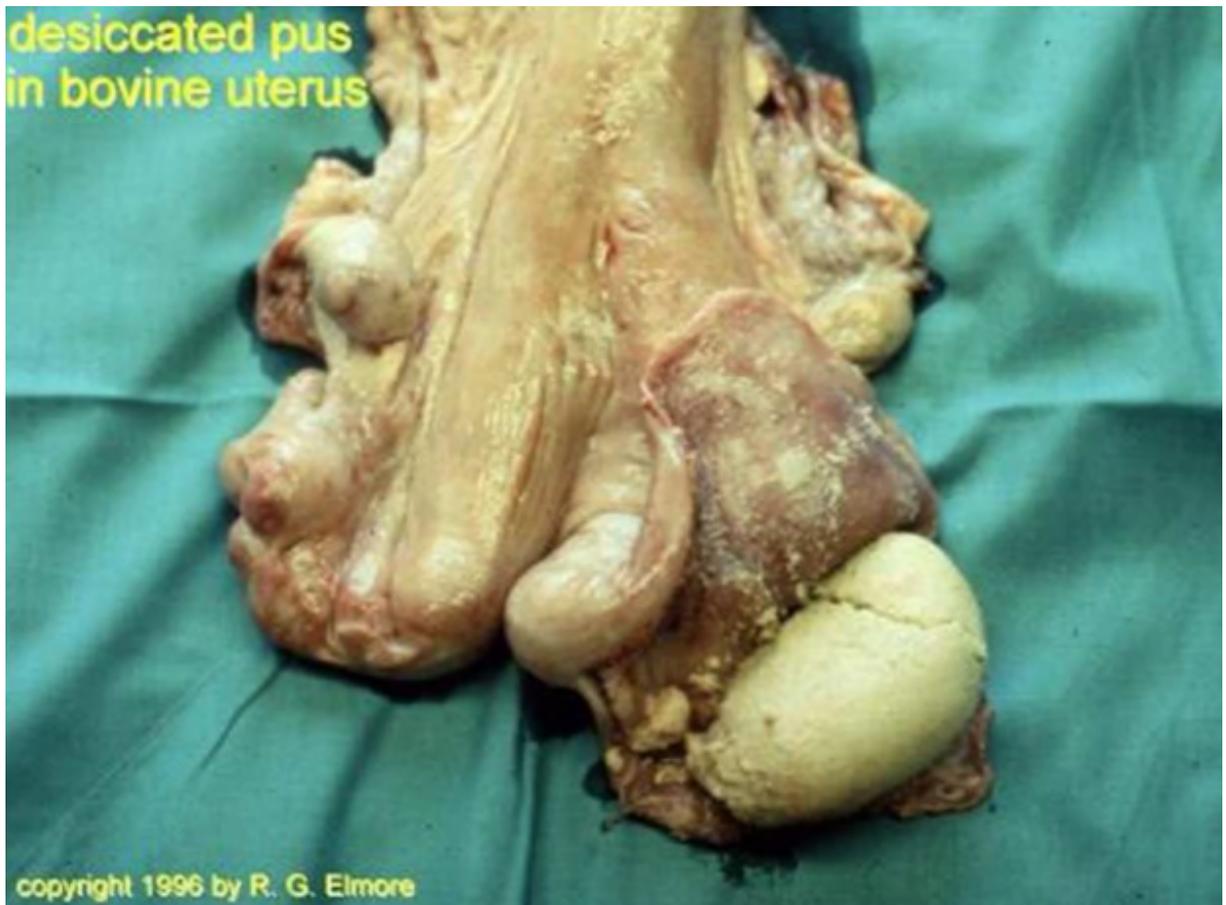


Figure N° 09:Métrite chronique de 3 ème degré (pyomètre) (Hanzene.,2008 - 2009).



Figure N° 10: pyomètre vache (Hanzene., 2008 - 2009).

9.2. Symptômes :

L'utérus est distendu et le devient progressivement plus de façon uni ou bilatérale. L'écoulement purulent est plus ou moins permanent selon le degré d'ouverture du col. L'animal présente de l'anœstrus. L'épithélium et les glandes sont fibroses. Dans de plus rares cas, le pyomètre peut s'accompagner de répercussions sur l'état général (amaigrissement, péritonite...) (Roberts., 1986, Noakes et al., 1990, Foldi et al., 2006, Ott et Gustafsson., 1981, Bondurant., 1999, Sheldon et Dobson., 2004, Sheldon et al., 2006).

9.3. Facteurs prédisposant :

Le pyomètre survient le plus souvent lorsque l'infection utérine persiste au cours de la première phase folliculaire. Dans la plupart des cas, le pyomètre découle de l'endométrite. Les infections vénériennes, telles que celles provoquées par *T. fetus*, peuvent favoriser une incidence élevée de pyomètre dans un troupeau infecté après l'accouplement. Cependant, des cas occasionnels peuvent également survenir après la mort embryonnaire, la macération fœtale et la surinfection à *T. pyogènes* (David E. Noakes., 2019).

9.4. Complications:

En raison d'une presque absence totale de cellules endométriales, la synthèse de prostaglandines devient impossible, conduisant à l'anœstrus causé par la persistance du corps jaune. Cependant, le mécanisme exact de cette observation reste à démontrer. En effet, on constate une concentration plus élevée de prostaglandines de type F ou E dans l'utérus et des métabolites des prostaglandines dans le plasma chez les vaches atteintes de pyomètre par rapport aux vaches normales (Manns et al. 1985). Il est donc possible que le transport normal

de la PGF2 lutéolytique soit altéré ou que l'action de la PGE lutéotrophique soit excessive (Hanzene., 2016).

9.5. Traitement de Pyomètre:

Le traitement de choix pour le pyomètre est la prostaglandine F2 α . Une fois que l'œstrus est induit, la vache reçoit un traitement par instillation locale d'une solution d'antiseptiques ou d'antibiotiques adaptée à la taille des cornes utérines. En complément, l'administration répétée d'ocytocine (10 à 40 UI) ou éventuellement de carbetocine (à plus longue durée d'action : 0,175 à 0,350 mg/animal) est considérée comme un traitement complémentaire pertinent (Hanzene., 2014).

CHAPITRE 03 :

Les microbiologies des tractus génitaux

1. Le tractus génital contient un microbiote dynamique :

Traditionnellement, l'utérus était considéré comme stérile, surtout pendant la gestation, mais il est maintenant reconnu que lors du vêlage, des microbes provenant des zones de vêlage peuvent atteindre l'utérus des vaches. Les laboratoires utilisent souvent des tests microbiologiques basés sur la culture pour identifier les espèces bactériennes invasives. L'avènement des techniques de séquençage génétique a rendu les données sur le microbiome, obtenues à partir d'approches d'évaluation étendues, facilement accessibles.

Les résultats de ces méthodes indépendantes de la culture révèlent une microflore dynamique dans l'utérus des bovins. Même pendant la gestation, lorsque le bouchon cervical isole le microbiome vaginal du microbiome utérin, celui-ci reste distinct chez les bovins (Karstrup et al., 2017).

Chez les bovins et les ovins, les phylums les plus courants dans le tractus génital sont *Bacteroidètes*, *Fusobactéries* et *Protéobactéries*. En ce qui concerne les genres, *Agrégatibactérie spp.* Et *Streptobacille spp.* Étaient les plus abondants. Il est intéressant de noter que les *Lactobacilles spp.* Qui sont les populations microbiennes prédominantes dans le tractus génital humain, étaient respectivement présents dans 80 % et 90 % des échantillons vaginaux de brebis et de vaches (Miller et al., 2016).

2.Importance du microbiome génital:

Le microbiome de l'appareil reproducteur des bovins reste largement inexploré, particulièrement en ce qui concerne sa classification taxonomique précise et ses fonctions microbiennes spécifiques. Comprendre ces aspects serait bénéfique pour le développement de méthodes de diagnostic, comme les biomarqueurs microbiens et les indicateurs de dysbiose. Les microbes présents dans le tractus génital des humains et des animaux remplissent des fonctions protectrices contre les agents pathogènes principaux (Miller et al., 2016).

3.Origine du microbiome génital:

La composition du microbiome du nouveau-né est influencée par le mode de naissance et l'environnement. Chez les bovins, des microbes tels que *Bactéroïdes* et *Entérobactéries*, présents dans le tractus génital et causant des maladies de la reproduction, pourraient provenir de l'intestin ou de l'environnement.

es résultats de diverses études suggèrent que le microbiome vaginal peut être en partie dérivé du système gastro-intestinal, tandis que d'autres ont observé la présence d'espèces méthanogènes dans le microbiome vaginal, suggérant une contribution à l'établissement du microbiote intestinal. De plus, la voie hématogène est également considérée comme une voie de contamination utérine importante par des agents pathogènes (Galvuno et al., 2019).

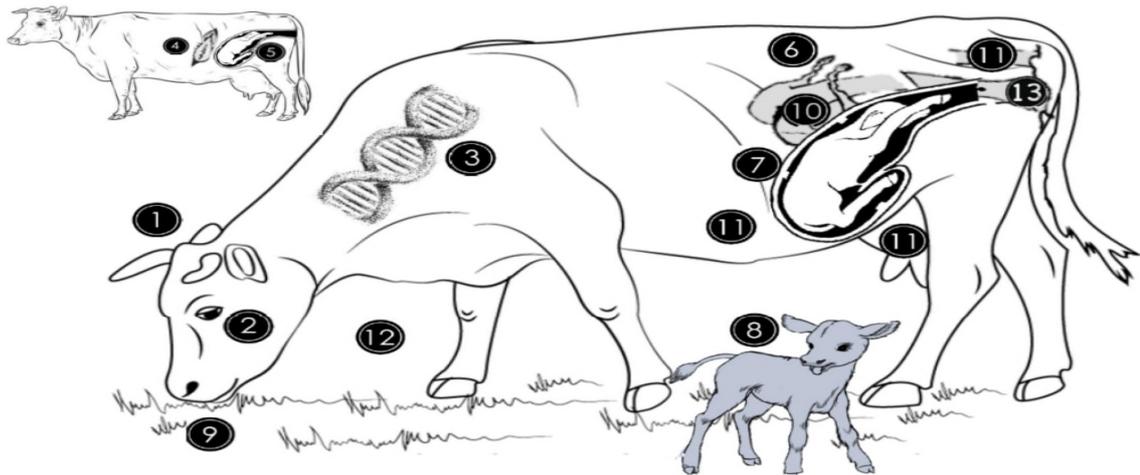


Figure N° 11. Origine du microbiome génital et facteurs pouvant affecter l'abondance et la diversité de la population microbienne.

Le microbiome génital est très variable entre les espèces (1) et les individus d'une même espèce (2). Par exemple, chez les bovins, le microbiote génital est différent entre les races Gyr, Nellore et Holstein (3). Le microbiome général du nouveau-né est similaire au microbiome cutané de la mère si la méthode de la parturition était par césarienne (4) et est similaire au microbiome vaginal s'il s'agissait d'un vêlage naturel (5). Les variations de concentration des hormones œstrogènes et progestérone au cours du cycle œstral influencent la croissance bactérienne dans les organes génitaux en favorisant certaines espèces à différents moments (6). Pendant la gestation, la quantité et la diversité bactérienne diminuent tandis que l'abondance des archées augmente dans le milieu vaginal (7). Les microbiomes vaginaux et utérins des vaches non diagnostiquées avec une métrite au cours du premier mois post-partum sont similaires chez les vaches sans infections utérines, mais différents de celles présentant des infections utérines (8). La qualité et la quantité de l'alimentation péripartum modifient le microbiome de l'endomètre grâce à l'apport d'énergie et de nutriments protéiques (9). Le microbiome utérin entre 10 et 35 jours après la parturition est similaire chez les vaches non diagnostiquées avec une endométrite subclinique et chez celles qui développeront une endométrite subclinique (10). Le rumen, la peau, le rectum ou les selles (11) contribuent à l'établissement du microbiome génital, tandis que l'environnement (12) et l'antibiothérapie intra vaginale (13) peuvent également modifier le microbiote endométrial au cours de la vie d'une vache.

4. Diversité du microbiome génital:

4.1. Vagin:

Les vaches sans infections utérines présent 15 taxon

Microbiome génital	Pourcentage
<i>Bactéroides</i>	(28,3%)
<i>Entérobactéries</i>	(17,8%)
<i>Victorallis</i>	(7,2%)
<i>Streptocoque</i>	(6,1%)
<i>Phyromonadacées</i>	(5%)
<i>Alistipes</i>	(3,9%)
<i>Coriobactériacées</i>	(3,3%)
<i>Clostridium</i>	(3,3%)
<i>Oscillibactérie</i>	(2,8 %)
<i>Planctomycétacées</i>	(2,8%)
<i>Bêtaprotéobactéries</i>	(2,8%)
<i>Corynebactérinées</i>	(2,8%)
<i>Cytophagacées</i>	(2,8%)

Tableau N° 01: Les microbiomes génitaux chez les vaches sains.

Les vaches atteintes par les maladies de la reproduction telles que les pertes vaginales purulentes ont un microbiome vaginal plus diversifié contenant 68 taxons, (Rodrigues et al., 2015).

Microbiome génital	Pourcentage
<i>Bactéroides</i>	(35,83%)
<i>Entérobactéries</i>	(18,62%)
<i>Histophilus</i>	(8,79%)
<i>Alistipes</i>	(4,34%)
<i>Flavobactériacées</i>	(1,77%)
<i>Victorallis</i>	(8,49%)
<i>Coriobactériacées</i>	(2,44%)
<i>Streptocoque</i>	(2,09%)
<i>Barnésielle</i>	(2,03 %)
<i>Oscillibactérie</i>	(1,24%)

Tableau N° 02: Les microbiomes génitaux chez les vaches atteintes par les maladies de la reproduction.

Les résultats d'une autre étude ont indiqué que les produits non classifiés (Deng et al., 2019).

Microbiome génital	Pourcentage
<i>Entérobactéries</i>	(21,05%)
<i>Uréaplasma</i>	(4,37%)

Tableau N° 03 : Les microbiomes génitaux non classifiés.

Microbiome génital	Pourcentage
Bactéroides	(2,49%)

Tableau N° 04 : Les microbiomes génitaux non classé

Microbiome génital	Pourcentage
Ténéricutes	(36%)
<i>Protéobactéries</i>	(30%)
<i>Fusobactéries</i>	(7,6 %)
<i>Firmicutes</i>	(1,8%)
<i>Firmicutes</i>	(31,57%)
<i>Protéobactéries</i>	(24,08%)
<i>Bacteroidètes</i>	(12,96 %)
<i>Ténéricutes</i>	(4,95 %)

Tableau N° 05:Les microbiomes génitaux Au niveau des phylums.

Une comparaison des résultats de ces études récentes révèle que les proportions de populations microbiennes prédominantes diffèrent significativement entre les individus.

Facteurs		Composition du microbiome génital
Espèces Bos taureau		Phylum: <i>Protéobactéries</i> , <i>Fus bactéries</i> , et <i>Bactéridies</i> . Genres : <i>Agrégat bactérie spp.</i> et <i>Streptobacilles pp.</i> <i>Lactobacilles</i> , <i>Sneathia spp.</i> <i>Porphyromonasspp.</i> Et <i>Prévotellespp.</i>
Race	Holstein	Phylum: <i>Firmicutes</i> , <i>Ténéricutes</i> , <i>Protéobactéries</i> , et <i>Bacteroidètes</i> <i>Actinobactéries</i> et <i>Spirochètes</i>
	Gyr	Genre de bactéries : <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidètes</i> , <i>Protéobactéries</i> , Et <i>Actinobactéries</i> Genre fongique : <i>Mycosphaerella</i> et <i>Cladosporium</i> . Genre Archée : <i>Méthanobrevibactérie</i> genre.
	Nellore	Bactéries : <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidètes</i> , <i>Protéobactéries</i> , et jusqu'à 20 % des bactéries non classées du genre fongique : <i>Mycosphaerella</i> et genre Archaeal : <i>Méthanobrevibactérie</i>
cyclicité oestrale	Phase folliculaire (estradiol élevé)	Pasteurellacées non classées
	Phase lutéale (faible estradiol)	Une plus grande diversité microbienne <i>Bactéroïdespp.</i> <i>Histophilus somni</i> , <i>Actinobacillus</i> , et <i>séminaires</i> , et non classé <i>Fusobactérie</i>
Gestation	Gestante	Le microbiome est relativement stable tout au long de la vie. période de gestation
		<i>Pasteurellamultocida</i>
	Pas gestante	<i>Pasteurellacéesspp.</i> <i>Fusobactériespp.</i> <i>Histophilussomni</i> , <i>Clostridiacées</i> 02d06, Et <i>Campylobactérie</i>
Avortement	<i>Staphylococcus</i> aureus <i>Trueperellapyogènes</i>	

Post-partum	35 premiers jours post-partum	<i>Porphyromonas, Bacillus, Schlegelella, Paracoccus, Et Fusobactérie</i>
	50 premiers jours post-partum	Similaire entre individus Enrichi avec Firmicutes
Maladie utérine	Sans maladie utérine	<i>Bactéroides (28,3%), Entérobactéries (17,8%), Victorallis (7,2%), Streptocoque (6,1%), Phyromonadacées (5%), Alistipes (3,9%), Coriobactériacées (3,3%), Clostridium (3,3%), Bêtaprotéobactéries (2,8%), Corynebactérinées (2,8%), Cytophagacées (2,8%), Oscillibactérie (2,8 %), et Planctomycétacées (2,8%)</i>
		<i>Phylum: Ténéricutes (36%), Protéobactéries (30%), Fusobactéries (7,6 %), et Firmicutes (1,8%)</i>
		<i>Firmicutes sont les plus prédominants</i>
	Avec maladies utérines (toutes incluses)	<i>Bactéroides (35,83%), Entérobactéries (18,62%), Histophilus (8,79%), Alistipes (4,34%), Flavobactériacées (1,77%), Victorallis (8,49%), Coriobactériacées (2,44%), Streptocoque (2,09%), Barnésielle (2,03 %), et Oscillibactérie (1,24%)</i>
		Petit <i>Firmicutes</i> <i>Bacteroidètes</i> rapport
	Métrite	Enrichi avec <i>Bactéroides, Helcocoque, Et Fusobactérie</i>
Diversité microbienne plus faible Abondance relative plus élevée de <i>Bactéroides, Porphyromonas, et Fusobactérie</i>		
Enrichi avec <i>Fusobactérienecrophorum, PorphyromonasLevii, et Prevotellamelaninogenica</i>		
Endométrite clinique	Enrichi avec <i>Escherichiacoli</i>	
	Diminution de la diversité bactérienne Forte prévalence de <i>Fusobactérie et Trueperella</i> Faible abondance d' <i>Escherichia, Shigella, Lactobacillus, Prévotelle, Schlegelella, et Streptocoque</i>	
	Une plus grande prévalence d' <i>Anaérocoque, Corynebactérie, Et Staphylocoque</i>	
Vulvovaginite nécrotique	Diminution de la diversité microbienne Grande abondance de <i>Bacteroidètes</i>	
Nutrition	Carence énergétique autour du vêlage	Forte prévalence de <i>Bacteroidètes et Fusobactéries</i>

Tableau N° 06 : Richesse et diversité du microbiome vaginal chez les bovins.

4.2.Utérus:

Il est désormais établi que les vaches possèdent un microbiome naturel dans leur utérus pendant la gestation (Karstrup et al., 2017). Bien que les microbes utérins proviennent principalement du vagin, avec une contribution moindre de la peau et de l'intestin, ce microbiome est moins diversifié que celui du vagin (Sheldon et al., 2019).

Les bactéries sont constamment présentes dans l'utérus, avec des espèces telles que *F.nécrophorum*, *Porphyromonas Levii* et *T.pyogènes* sont détectées chez les vaches gestantes. Il est notable que des microbes opportunistes comme *Histophilus* et les *Mycoplasmataceae* peuvent devenir pathogènes. De plus, l'abondance bactérienne dans l'utérus avant le vêlage ne semble pas être associée à une inflammation, suggérant une plus grande tolérance microbienne pendant la gestation (Galvuno et al., 2019).

5.Facteurs affectant la diversité du microbiome génital :

Les populations microbiennes présentes dans l'appareil reproducteur des animaux sont naturellement sélectionnées en raison de diverses fonctions symbiotiques. Outre ces fonctions, d'autres facteurs intrinsèques affectent la diversité microbienne génitale, certains étant liés au stade du cycle reproducteur féminin, tandis que d'autres sont extrinsèques, tels que la nutrition (Kovachev., 2018).

5.1Facteurs intrinsèque :

5.1.1Espèces:

Le microbiome génital varie d'une espèce animale à l'autre, et même entre les individus au sein d'une même espèce, ce qui peut perturber la régulation des hormones reproductives. Par exemple, dans deux études distinctes portant respectivement sur des vaches atteintes d'endométrite et des vaches exposées au lipopolysaccharide bactérien (LPS), les concentrations d'estradiol étaient plus basses et la période jusqu'à l'ovulation pendant la phase folliculaire du cycle de reproduction était relativement prolongée (Williams et al., 2007).

Les microbiomes vaginaux des bovins se caractérisaient par une abondance significative d'*Entérocoque spp.*, *Staphylocoquespp.* Et *Streptocoque spp.* Tandis que chez les brebis, une prédominance de *Bacille spp.*, *Corynebactérie spp.*, *Escherichia spp.*, *Staphylocoque spp.* Et *Streptocoque spp.* Était observée (Manès et al., 2010). Au niveau des phylums, les microbiomes génitaux des vaches et des brebis étaient principalement composés de *Protéobactéries*, *Fusobactéries* et *Bacteroidètes*. En ce qui concerne les genres, *Agrégatibactérie spp.* Et *Streptobacille spp.* Était les espèces prédominantes.

Alors que les *Lactobacilles* sont présents chez 80 % des brebis et 90 % des vaches, la population microbienne totale est moins abondante, ce qui crée un environnement vaginal presque neutre par rapport à l'environnement acide observé chez les femmes, où les *Lactobacilles* sont largement prédominants. En plus des *Lactobacilles*, les vaches et les brebis partagent plusieurs genres, principalement *Sneathia spp.*, *Porphyromonas spp.* et *Prevotellaspp.* Un faible ratio *Firmicutes* à *Bacteroidètes* est un indicateur précoce chez les vaches qui développeront éventuellement une endométrite post-partum (Manès et al., 2010).

5.1.2.Race:

Chez les bovins Gyr, une race laitière répandue en Amérique du Sud, notamment au Brésil, le microbiome vaginal est caractérisé par une présence abondante de bactéries et de champignons, avec une petite population d'archées également observée (Giannattasio et al., 2019).

Parmi les bactéries, les phylums les plus fréquemment détectés sont les *Firmicutes*, les *Bacteroidètes*, les *Protéobactéries* et les *Actinobactéries*. Les champignons *Mycosphaerella* et *Cladosporium* étaient également présents.

Chez les bovins de boucherie de race Nellore, le microbiome vaginal est majoritairement constitué de *Firmicutes*, de *Bacteroidètes*, de *Protéobactéries*, et jusqu'à 20 % de bactéries non classées. Le genre fongique le plus abondant est *Mycosphaerella*, tandis que le genre archéen prédominant est *Méthanobrevibactérie*. En revanche, chez les bovins de race Holstein Friesian, la race laitière la plus courante en Afrique du Nord, en Europe et aux États-Unis, le microbiome vaginal est principalement composé de *Firmicutes*, de *Tenericutes*, de *Protéobactéries* et de *Bacteroidètes*.

D'autres bactéries ont été observées en quantités moindres, telles que les *Actinobactéries* et les *Spirochètes* (Quadros et al., 2020).

5.1.3.Mode de livraison :

Le mode de la parturition est l'un des principaux déterminants de la diversité du microbiome génital. Lors d'une naissance par césarienne, le microbiome général du nouveau-né ressemble à celui de la peau maternelle, tandis qu'une naissance naturelle est associée à un microbiome similaire à celui du vagin maternel. Les communautés bactériennes établies précocement offrent une protection contre les agents pathogènes qui pourraient potentiellement infecter le nouveau-né.

Alors que le vagin maternel constitue la principale source du microbiome naturel, un microbiome néonatal distinct se forme peu de temps après la naissance, avec des microbes provenant d'autres sources. Par exemple, les nouveau-nés nés par césarienne présentent une prévalence plus élevée d'infections cutanées résistantes à la méthicilline *Staphylococcus aureus* (SARM) (64 à 82 %) par rapport à ceux nés par voie vaginale sans complications (Dominguez-Bello et al., 2010).

5.1.4.Cyclicité œstrale:

Les cycles œstraux chez les bovins sont contrôlés par des changements hormonaux, caractérisés par des concentrations plus élevées d'œstradiol pendant le pro-œstrus et l'œstrus, et des concentrations plus élevées de progestérone pendant le met-œstrus et le di-œstrus.

Ces variations hormonales ont des répercussions significatives sur le pH vaginal chez les mammifères (Perry et Perry., 2008).

Les microbes sont sensibles à l'environnement acide, ce qui suggère que les concentrations d'œstradiol peuvent influencer le microbiome du tractus génital de différentes espèces, avec des variations selon ces concentrations. Selon une étude récente, les populations de *Bactéroïdes* spp. *Histophilus somni*, *Actinobacillus*, et *seminis*, ainsi que les Fusobactéries non classées, augmentent lorsque les concentrations d'œstradiol sont relativement faibles dans le milieu vaginal. En revanche, lorsque les concentrations d'œstradiol sont plus élevées, les *Pasteurellacées* dominent dans le vagin. De même, des concentrations plus élevées de progestérone sont associées à une augmentation des populations microbiennes dans le vagin (Otero et al., 1999).

5.1.5.Gestation :

Pendant la gestation, le microbiome vaginal montre une diversité microbienne réduite et une augmentation de la population archéenne (Laguardia-Nascimento et al., 2015), principalement à cause des niveaux élevés de progestérone qui suppriment les bactéries vaginales.

Cette réduction de la diversité microbienne pourrait accroître le risque de dysbiose et de complications telles que les avortements. En revanche, le microbiome vaginal des bovins reste relativement stable tout au long de la gestation (Deng., 2019) . Les génisses non gestantes présentent une abondance notable de *Pasteurellacées* spp. Et de *Fusobactéries* spp.

Dans le vagin, tandis que celles gestantes montrent une prévalence accrue de *Pasteurella multocida*(Table 6) (Messman, R.; Contreras-Correa., 2020).

5.1.6. Post-partum:

Pendant la gestation, la diversité microbienne du microbiome vaginal diminue tandis que la population archéenne augmente. Les espèces bactériennes dans le vagin sont moins variées en raison des concentrations plus élevées de progestérone, ce qui entraîne une suppression du microbiome vaginal. Cette réduction de la population microbienne pourrait accroître le risque de dysbiose et d'avortement pendant la gestation. Le microbiome vaginal des bovins reste relativement stable tout au long de la gestation.

Chez les génisses non gestantes, on observe une abondance de *Pasteurellacées spp.* Et de *Fusobactéries spp.* Dans le vagin, tandis que les génisses gravides présentent une prévalence plus élevée de *Pasteurella multocida* (Messman et al., 2020).

Une grande variabilité entre les individus a été observée dans le microbiome utérin des vaches sans infections utérines au cours du premier mois après le vêlage. Les diversités alpha et bêta n'ont pas été influencées par le moment d'échantillonnage post-partum, avec des niveaux de diversité bactérienne similaires entre 10, 21 et 35 jours post-partum dans l'utérus des vaches, qu'elles présentent ou non une inflammation utérine. Cependant, le microbiome utérin était nettement distinct entre les deux groupes.

Selon les résultats d'une analyse métagénomique réalisée sur des échantillons utérins collectés trois fois au cours des 35 premiers JPP, le microbiome utérin des vaches sans inflammation utérine était principalement composé de *Porphyromonas*, *Bacillus*, *Schlegelella*, *Paracoccus* et *Fusobactéries*.

Il est notable que les microbiomes vaginal et utérin des vaches sans inflammation utérine au cours des 50 premiers jours post-partum étaient similaires et largement dominés par les Firmicutes. Cette observation pourrait s'expliquer par le relâchement de la lumière cervicale peu après le vêlage, favorisant le mélange des milieux vaginal et utérin, ainsi que la redistribution de leur contenu dans tout l'appareil reproducteur. Nous formulons l'hypothèse que chez les vaches sans inflammation utérine, le microbiome génital n'est pas contaminé par le microbiome externe lors du vêlage, ou du moins n'est pas altéré de manière significative pendant une période prolongée après la parturition. Une analyse rétrospective comparant le microbiome génital des vaches gestantes avant le vêlage avec celles développant une endométrite après 21 jours post-partum et celles maintenant un utérus sain a révélé que le

microbiome génital avant le vêlage était semblable à celui des vaches en bonne santé qui n'ont pas développé d'infections utérines après le 21JPP (Miranda-CasoLuengo et al., 2019).

5.2.Facteurs extrinsèques:

5.2.1.Nutrition:

Il a été observé que la composition microbienne de l'utérus des vaches laitières pendant la période post-partum est influencée par la teneur en éléments nutritifs de leur alimentation, en particulier la teneur en énergie au moment du vêlage. Les vaches nourries avec 80 % de leurs besoins énergétiques ont présenté une inflammation utérine, avec une prédominance des espèces *Bacteroidetes* et *Fusobactéries* dans leur microbiome utérin.

Une comparaison entre le microbiome utérin avant et après le vêlage chez les vaches ayant développé une métrite et celles qui ne l'ont pas contractée a révélé que les vaches atteintes de métrite présentaient principalement des *Bacteroidetes* et *Fusobactéries*, avec une réduction de la présence de *Protéobactéries* et *Ténéricutes*, ce qui différait nettement de celles sans métrite. Ainsi, il est évident que la nutrition influence le microbiome génital en modulant le métabolisme global et les fonctions immunitaires, ce qui peut avoir un impact sur l'incidence de la dysbiose et des infections génitales (Galvuno et al., 2019).

5.2.2.Pathologies génitales:

Il est remarquable que les vaches atteintes d'une endométrite subclinique présentent un microbiome utérin similaire à celui des vaches sans inflammation utérine entre 10 et 35 jours post-partum, tandis que les vaches atteintes d'une endométrite clinique avaient une composition microbienne différente des deux autres groupes.

Les vaches souffrant d'endométrite clinique présentaient une diversité bactérienne réduite, caractérisée par une prédominance accrue de *Fusobactéries* et de *Trueperella*, associée à une diminution de l'abondance d'*Escherichia*, *Shigella*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Schlegelella* et *Streptocoque* par rapport aux vaches sans inflammation utérine et à celles présentant une endométrite subclinique. Dans ce dernier groupe, on observait une prévalence relativement plus élevée d'*Anaérocoque*, *Corynebactérie* et *Staphylocoque* par rapport aux vaches souffrant d'endométrite clinique. La composition microbienne de l'utérus et du vagin à 7 jours post-partum est associée au risque de développer une endométrite clinique après 21 JPP.

Chez les vaches atteintes d'endométrite, le microbiome vaginal à 7 jours post-partum est significativement enrichi en *Bactéroides*, *Helcocoque* et *Fusobactérie*, tandis que chez les vaches sans inflammation utérine, les *Firmicutes* sont les plus prédominants. Les comparaisons des microbiomes utérins et vaginaux chez ces animaux ont révélé une similarité de composition microbienne à 7 jours post-partum, mais cette similitude diminuait entre 21 et 50 jours post-partum.

Ces conclusions confirment que le microbiome génital des vaches présentant un risque d'endométrite n'est pas entièrement établi au cours du premier mois post-partum, contrairement aux vaches sans inflammation utérine, chez qui les microbiomes utérin et vaginal sont bien établis dès le septième jour post-partum (Pascottini et al., 2020).

La métrite, caractérisée par une inflammation prononcée de l'endomètre et du myomètre peu après le vêlage et avant le 21^e jour post-partum, se distingue par une moindre abondance relative du microbiome vaginal et une concentration accrue de *Bactéroides*, *Porphyromonas* et *Fusobactéries*. De même, les vaches souffrant de métrite présentent un microbiome utérin nettement enrichi en *F. nécrophorum*, *Porphyromonas Levii* et *Prevotella melaninogenica* par rapport à celles n'ayant pas de métrite. Il est également intéressant de noter la présence précoce d'*E. Coli* chez la plupart des vaches en post-partum, cette bactérie étant cruciale pour le développement de *F. nécrophorum*, entraînant ainsi la métrite, tandis que la présence de cette dernière bactérie est souvent associée à *T. pyogènes* en cas d'endométrite.

Les microbiomes des bovins diagnostiqués avec une vulvovaginite nécrotique (BVVN) se distinguent de ceux qui ne sont pas diagnostiqués avec le BVVN par leur diversité microbienne relative et une forte prévalence de *Bacteroidètes* (Shpigel et al., 2017).

6. Dysbiose et perturbation du microbiome génital:

La dysbiose bactérienne est une condition inflammatoire définie par la présence de populations poly microbiennes de microbes commensaux en abondance modérée ou par leur absence totale.

Chez les vaches ayant des difficultés à concevoir, ainsi que chez les vaches gestantes, la présence de *S. aureus* était liée à un risque accru d'avortement, tandis que ce pathogène

était rare chez les vaches avec une durée de gestation normale. *T. pyogènes* est également un agent pathogène majeur associé à l'avortement pendant la dernière moitié de la gestation.

Bien que les *Fusobactéries* et les *Bacteroidètes* soient couramment présents dans le tractus génital des vaches, qu'elles présentent ou non une inflammation, il est crucial de prévenir leur prolifération pour éviter les infections de l'appareil reproducteur. Le traitement antibiotique intravaginal altère le microbiome génital, entraînant une dysbiose.

Les chiennes ayant reçu des antibiotiques par voie intravaginale pendant l'œstrus étaient moins enclins à attirer les mâles en période d'œstrus que celles non traitées aux antibiotiques. Les modifications dans le comportement sexuel pourraient résulter des changements dans la diversité microbienne et dans les signaux sémiocchimique émis par le microbiome altéré suite au traitement antibiotique (Dziecioł et al., 2013).

7.Microbiome du tractus génital et probiotiques:

La métrite résulte de l'activité de diverses bactéries, notamment *E. coli*, *F. necrophorum* et *T.pyogènes* (Bicalho et al., 2012).

En raison des conséquences économiques importantes liées aux médicaments, au retrait du lait et à la diminution de la fertilité, les antibiotiques et les antimicrobiens sont fréquemment employés pour gérer cette maladie.

Les céphalosporines de troisième génération représentent le traitement privilégié de la métrite. Cependant, dans de nombreux pays tels que les États-Unis, leur utilisation est interdite chez les animaux destinés à la consommation humaine, étant réservée uniquement à la médecine humaine. Par ailleurs, l'usage abusif d'antibiotiques augmente le risque de développement de souches résistantes et l'accumulation d'antibiotiques dans les résidus de lait et de viande (Oliver & Murinda., 2012). Il est donc crucial d'explorer de nouveaux protocoles alternatifs pour améliorer la gestion des affections reproductives. Le terme "probiotiques" fait référence à des micro-organismes vivants qui procurent des bienfaits pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates (Fuller., 1989).

L'utilisation de probiotiques montre des perspectives encourageantes dans le traitement des affections urogénitales humaines. Les lactobacilles peuvent constituer une partie de la population bactérienne résidente dans l'utérus, formant ainsi un microbiome protecteur. Par conséquent, le microbiote utérin et des espèces bactériennes spécifiques

peuvent être associés à des conditions de santé critiques telles que l'endométrite, une amélioration des taux de conception ou encore des avortements. Une étude approfondie des interactions du microbiote du tractus génital pourrait bénéficier à la fertilité des bovins.

Les *lactobacilles* sont fréquemment employés en tant que probiotiques pour traiter diverses affections génitales ou générales, car ils semblent être bien tolérés par l'organisme hôte. De plus, les *lactobacilles* peuvent moduler l'immunité de l'hôte en produisant des molécules bioactives telles que l'acide lactique et le peroxyde d'hydrogène (Tachedjian et al., 2017).

Enfin, ces bactéries semblent être bien tolérées par l'organisme hôte et sont rarement associées à des problèmes génitaux. Par exemple, les *Lactobacilles* ont été utilisés pour traiter la candidose vulvovaginale, une infection fongique du vagin causée par *Candida albicans* (De Seta et al., 2014). Les patients ont été traités avec des capsules de *Lactobacillus plantarum* administrées par voie intravaginale.

Finalement sur une période de cinq semaines, cela a abouti à une résolution plus efficace des symptômes par rapport aux patientes recevant uniquement du clotrimazole sous forme de crème intravaginale. De même, l'utilisation réussie de *Lactobacillus crispatus* pour traiter les infections récurrentes des voies urinaires, principalement causées par *E. coli*, a été observée (Stapleton et al., 2011). Les patientes ont reçu un traitement à base de capsules intravaginale contenant du *Lactobacillus crispatus* pendant 15 jours, ce qui a entraîné un taux de récurrence de la maladie inférieur à celui observé dans le groupe témoin.

De plus, chez les souris, la supplémentation orale en *Lactobacillus rhamnosus* a conduit à de meilleures performances dans un test de natation, à une réduction de l'anxiété et à une expression accrue des récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) dans le cerveau (Bravo et al., 2011). Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur puissant du système nerveux central qui diminue l'excitabilité neuronale dans tout le système nerveux. Des études ont montré que l'ablation partielle du nerf vague, qui relie le tractus gastro-intestinal au cerveau, a annulé les effets induits par la supplémentation en *Lactobacilles*. Cela souligne le rôle crucial de toutes les informations provenant du système digestif, y compris du microbiome intestinal, dans le comportement animal.

En conséquence, l'utilisation de *Lactobacilles* en tant que probiotiques, administrés directement par voie intravaginale, pourrait jouer un rôle important dans la gestion des maladies utérines post-partum. Des études ont montré que l'introduction intravaginale de

Lactobacillus sakéi et de *Pediococcus acidilactici* chez les animaux avant et après le vêlage a réduit l'incidence de l'inflammation de l'endomètre post-partum. Les *Pédiocoque* sont également précieux en tant que probiotiques car ils possèdent des gènes spécifiques codant pour la pédiocine, un peptide bactéricide (Wang et al., 2013). Dans une étude, des vaches laitières ont reçu des *Lactobacillus buchnerion* par voie intravaginale entre 24 et 30 jours après le vêlage, puis leur état de santé utérin et leurs performances reproductives ont été mesurés et comparés à un groupe témoin. Le traitement probiotique a conduit à une réduction du nombre de jours médians jusqu'au premier service, à un nombre inférieur de services par conception, à un taux de conception plus élevé au premier service et à une réduction du nombre de jours médians jusqu'à la conception par rapport au groupe placebo, qui a été traité avec une solution saline isotonique.

De plus, l'expression génique des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires était plus faible dans les groupes probiotiques. Ces résultats confirment que la présence de Lactobacilles dans le tractus génital protège la santé génitale et améliore la fertilité des vaches.

8. Microbiome du tractus génital et prébiotiques:

De manière alternative, il est envisageable de créer des environnements propices à l'essor d'un microbiome sain grâce à l'utilisation de probiotiques (Esposito et al., 2020).

L'apport d'une alimentation riche en énergie autour du vêlage impacte la diversité du microbiome utérin et le développement d'inflammations utérines. Par exemple, chez les vaches Holstein multipares gestantes, celles nourries avec une alimentation couvrant 80 % des besoins énergétiques ont été comparées à celles recevant une alimentation couvrant 100 % des besoins énergétiques, de 20 jours avant le vêlage jusqu'à 30 jours après la mise bas. Les résultats ont montré une prévalence accrue des phylums *Bacteroidetes* et *Fusobactéries*, ainsi qu'une augmentation de l'expression des cytokines inflammatoires dans l'endomètre en raison de la restriction énergétique. Selon une étude antérieure, le passage d'un utérus sain post-partum à un utérus atteint de métrite est associé à une prolifération des phylums *Bacteroidetes* et *Fusobactéries*, ainsi qu'à une diminution de la prévalence des *Protéobactéries* et des *Ténéricutes* (Galvão et al., 2019).

CHAPITER 04:

Diagnostic Microbiologique des affections utérines

A. Méthodes de prélèvements

1. Examen Bactériologie :

Principe:

L'examen bactériologique peut être réalisé selon deux méthodes de prélèvement : la biopsie utérine ou l'écouvillon bactérien. Bien que Messier et al (Messier et al., 1984). Aient signalé une augmentation de 33 % des isolats détectés avec la biopsie par rapport à l'écouvillon bactérien, ce dernier a depuis suscité un vif intérêt en raison de son coût moindre, de sa facilité de mise en œuvre accrue et de son innocuité pour l'animal (Bonnett et al., 1993). Il se présente sous la forme d'une capsule stérile en coton ou en gélatine, fixée à l'extrémité d'une tige plastique et protégée par une gaine stérile double.

La réussite du prélèvement dépend d'un nettoyage méticuleux de la région périnéale et de l'utilisation d'un milieu de transport approprié, permettant la survie des contaminants jusqu'à la mise en culture en conditions aéro- et anaérobies en laboratoire (Foldi et al., 2006) (Williams et al). Ont proposé une classification des colonies isolées d'utérus bovins post-partum en fonction de leur potentiel pathogène. Protégé par une double gaine, l'écouvillon bactérien, relativement souple mais de diamètre important (9 mm), rencontre des difficultés lors de son insertion à travers le col de l'utérus. De plus, maintenir des conditions stériles constitue un défi technique supplémentaire. Dans les environnements d'élevage, la contamination par des particules aéroportées est pratiquement inévitable.

Par conséquent, interpréter les résultats et distinguer les contaminants pathogènes des opportunistes devient complexe. Étant donné la fréquente contamination des échantillons, la détection d'un agent pathogène est significative uniquement s'il est retrouvé à plusieurs reprises chez le même animal, s'il appartient à une liste de germes reconnus (selon la classification de Williams et al) (Williams et al., 2005), ou s'il est associé à des lésions histologiques. De plus, le délai pour obtenir les résultats est de 48 heures. Bien que l'achat d'une pince à biopsie représente un investissement initial, sa durabilité en fait un outil rentable. En revanche, les écouvillons bactériens destinés aux juments, conçus pour un usage unique, coûtent en moyenne une trentaine d'euros HT pour un lot de dix.

Matériels:

Des écouvillons utérins à usage unique destinés aux juments ont été employés (Equivet®, Alcyon). Ils étaient constitués d'une capsule stérile en coton fixée à l'extrémité d'une tige plastique d'environ soixante centimètres de long et de six millimètres de diamètre, enveloppée dans une double gaine protectrice stérile pour prévenir toute contamination lors de son introduction dans les voies génitales (voir figure 10). Pour le prélèvement bactériologique, l'utilisation d'un dilateur cervical métallique (de diamètre de 6 ou 8 mm ; IMV Technologies, l'Aigle, France) pouvait être nécessaire.

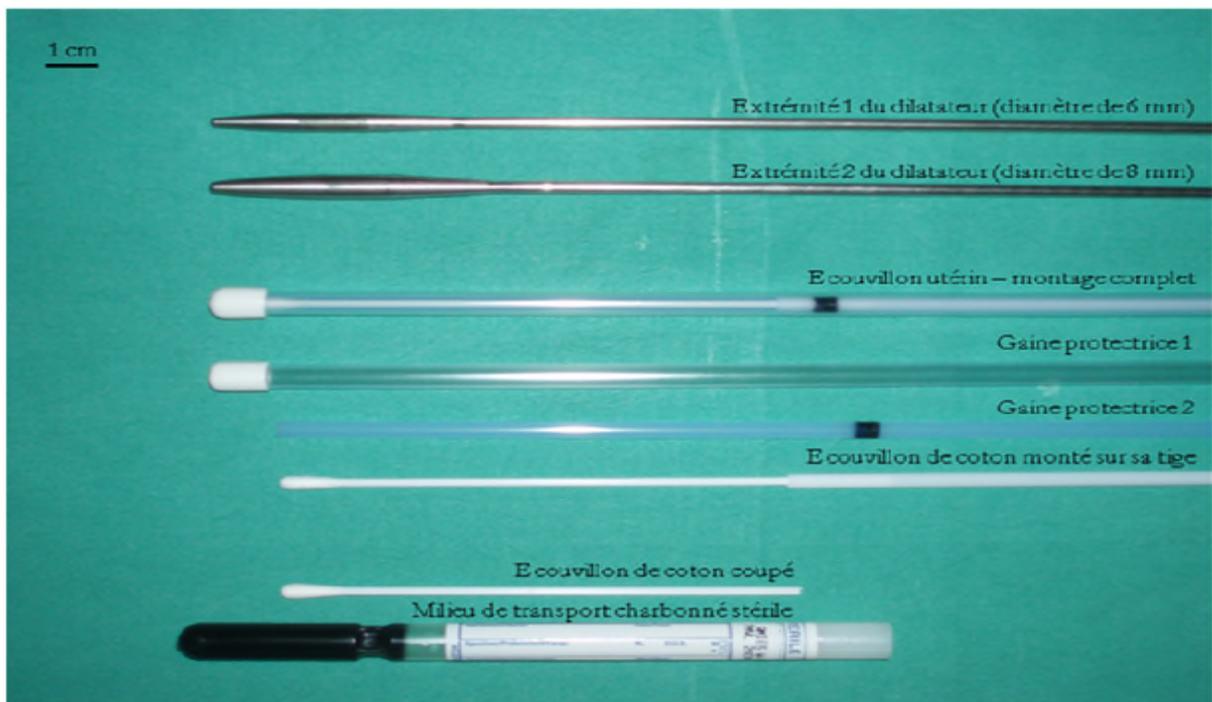


Figure N° 12: Matériel utilisé pour le prélèvement bactériologique (Deguillaume).

Méthode :

Ce prélèvement nécessitait l'intervention de deux opérateurs. Après une désinfection minutieuse de la vulve selon les protocoles préétablis, l'utilisation d'un dilateur métallique pouvait être envisagée pour faciliter le passage de l'extrémité large de l'écouvillon bactérien (d'un diamètre de 9 mm) lors du cathétérisme cervical. Une fois cette étape préliminaire terminée, le dispositif était introduit dans le vagin et guidé par palpation transrectale à travers le canal cervical jusqu'à la lumière utérine. Une fois dans l'utérus, l'écouvillon, libéré de sa gaine protectrice, était avancé de deux centimètres vers l'avant de la bifurcation des cornes utérines et mis en contact avec l'endomètre utérin. Avant son retrait définitif, le coton était réinséré dans sa gaine protectrice de manière stérile. De façon aseptique, le deuxième opérateur plaçait ensuite l'écouvillon dans un milieu de transport charbonné stérile (milieu

Amies, AES, Combourg, France, voir figure 10), traditionnellement utilisé dans l'identification de la Métrite Contagieuse des Equidés, ce qui permettait la survie des souches aéro- et anaérobies. Le délai entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire (Laboratoire de Bactériologie) n'excédait pas six heures.

B. Les milieux des cultures

1. Définition :

Les milieux de culture, élaborés à partir de substances nutritives, encouragent la prolifération des micro-organismes comme les bactéries, les levures et les moisissures, en leur fournissant les éléments essentiels à leur croissance optimale. Leur application est vaste, couvrant les domaines agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, ainsi que les secteurs environnementaux, de la recherche scientifique et de l'éducation.

2. Préparation des milieux:

2.1.Considérations générales:

La majorité des milieux sont disponibles sous forme déshydratée, ce qui garantit une composition constante, une facilité de stockage et une préparation simplifiée. Pour reconstituer le milieu, il faut mélanger la poudre avec la quantité d'eau recommandée, homogénéiser et la dissoudre complètement en chauffant (le temps d'ébullition ne doit pas dépasser 1 à 2 minutes) à l'aide d'un agitateur magnétique sur plaque chauffante.

L'utilisation d'un erlenmeyer en verre borosilicaté (comme le Pyrex) est conseillée pour assurer une bonne homogénéisation et réduire l'évaporation. Après un refroidissement partiel, le milieu est réparti dans d'autres contenants (flacons ou tubes à essai) pour être stérilisé, généralement dans un autoclave. La durée et la température de stérilisation peuvent varier en fonction de la composition et du volume du milieu, mais en général, une stérilisation de 15 à 20 minutes à 120 °C est recommandée. Les milieux peuvent ensuite être conservés tels quels pour une utilisation ultérieure ou versés dans des boîtes de Pétri pour une utilisation immédiate (Harrigan., 1976).

2.2. Milieu de Chapman :

Le milieu de Chapman, utilisé en microbiologie comme milieu sélectif, favorise la croissance des germes halophiles, principalement des bactéries Gram positives. Sa

concentration élevée en chlorure entrave la croissance de la plupart des bactéries, à l'exception des staphylocoques (BIO-RAD., 2007).

1.3. Milieu de MacConkey:

Ce milieu sélectif permet l'isolement des bacilles Gram négatifs *Salmonella* et *Shigella* en utilisant deux inhibiteurs, le cristal violet et les sels biliaires. Il est également efficace pour détecter les bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, pharmaceutiques et biologiques (Biokar., 2009).

2.4. Baird Parker :

Milieu sélectif pour les Staphylocoques :

- Conversion du tellurite en tellure noir.
- Dégradation protéolytique du jaune d'œuf, formant un halo transparent autour de la colonie.
- Hydrolyse enzymatique de la lécithine, conduisant à la formation de zones blanches opaques (précipitation blanche d'acides gras).

C. Technique de la culture bactérienne

1. Technique de l'ensemencement:

- La pipette (ou l'anse) et l'ouverture du tube contenant la culture microbienne sont rapidement exposées à la flamme bleue du bec Bunsen ;
- En cas d'aspiration d'une culture en solution à l'aide d'une poire, l'effilure est brisée avec une pince dans la zone stérile ;
- Ensuite, la solution aspirée (généralement 1 ml) à l'aide d'une poire est déposée sur le milieu de culture ;
- Selon la nature de l'échantillon à analyser, l'ensemencement peut être réalisé en masse, en surface ou par une piqûre centrale ;
- L'ensemencement de surface peut se faire sous forme de stries dans le sens de la flèche ou par étalement (dilution)(Collins et al., 1985).

2. Techniques d'isolement:

Pour explorer les microorganismes, il est essentiel de les isoler et de les cultiver en une pureté vérifiable (pour s'assurer de la pureté de la souche). L'objectif de l'isolement est donc de produire des clones distincts pour chaque microorganisme différent. Une souche est considérée comme pure lorsque toutes les colonies la constituant sont identiques. Par conséquent, les colonies résultantes de l'étalement d'une souche pure doivent toutes présenter les mêmes caractéristiques. La méthode des stries est couramment employée pour réaliser cet isolement (il est crucial de réaliser des stries serrées pour un bon isolement) (Collins et al., 1985).

3. Purification:

Un repiquage a été réalisé 4 fois afin d'obtenir un milieu précise des colonies.

D. Méthodes d'identification des microorganismes :

1. Identification de gram:

Identification des souches a été réalisée sur la base de coloration de Gram et des tests biochimiques et des tests classiques.

1.1. La coloration de Gram :

La coloration double différentielle, effectuée lors de l'examen microscopique des bactéries, permet non seulement de visualiser la forme des cellules, mais également de classer les bactéries en deux grands groupes taxonomiquement distincts : les bactéries Gram-positives et les bactéries Gram-négatives (Delarras., 2007).

1.2. Les tests biochimiques:

1.2.1 Teste de fermentation de la Mannitol – mobilité :

Le mannitol est un dérivé réduit du D-mannose. Le milieu mannitol-mobilité est utilisé pour détecter simultanément la fermentation et la mobilité des microorganismes. Les souches à étudier sont ensemencées dans le milieu par une piqûre centrale, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Un changement de couleur du milieu vers le jaune indique la fermentation du mannitol, tandis que la diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (Marchal et al., 1991).

1.2.2 Test de citrate de Simmons:

Ce milieu ne présente qu'une seule source de carbone : le citrate. Il repose sur la capacité de certaines bactéries à utiliser le citrate de Simmons comme unique source de carbone. La culture est réalisée par une strie longitudinale et incubée à 37 °C pendant 24 heures.

- Résultat Citrate-positif : présence d'alcalinisation du milieu, indiquée par un virage de l'indicateur vers le bleu.

- Résultat Citrate-négatif : absence de croissance visible, le milieu reste vert (Marchal et al., 1991).

1.2.3 Teste décarboxylase ODC,LDC,et des di hydrolase ADH bactérienne:

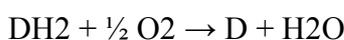
Ce teste généralement utilise pour identifier les espèces appartenant à la famille *Enterobacteriaceae* (cas des bacilles Gram_ a métabolisme fermentatif), qui facilite la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase(ODC)de l'arginine (ADH). On fait l'ensemencer chaque milieu avec colonie de suspension bactérienne et incuber pendant 24h à 37C.

1.2.4 Teste TSI (triple Sugar Iron):

Ce test permet l'identification des entérobactéries en mettant en évidence leur capacité à fermenter trois sucres et à produire du gaz. On prélève une colonie bactérienne à l'aide d'une anse de platine, puis on la dépose sur le culot du tube en effectuant des stries sur la pente de gélose. Ensuite, on incube à 37 °C pendant 24 heures. La fermentation des sucres se traduit par une coloration jaune de la gélose, tandis que la production de gaz se manifeste par des fissures dans la gélose (Le Minor et Richard., 1993).

1.2.5. Test d'oxydase:

La détection de l'oxydase constitue un test essentiel dans l'identification bactérienne. Cette enzyme, présente dans la chaîne respiratoire des bactéries, catalyse des réactions d'oxydation telles que :

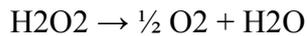


Pour réaliser le test, un disque de papier filtre est déposé sur une lame propre et imprégné d'une goutte de réactif. Ensuite, une colonie bactérienne parfaitement isolée est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et écrasée sur le disque pendant une dizaine de

secondes. L'observation immédiate est cruciale. L'apparition d'une coloration rose/violette indique l'oxydation du réactif, confirmant la présence de l'enzyme oxydase (souche oxydase +).

1.2.6 Test de catalase:

La catalase est une enzyme qui accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) selon l'équation :



Pour effectuer le test, une colonie microbienne est exposée à une goutte d'eau oxygénée (3 %) sur une lame. La présence de bulles gazeuses indique la présence de catalase dans la colonie.

1.3. Galeries API:

1.3.1. Définition:

Une galerie API (Analytical Profile Index) se compose de petites tubulures miniaturisées contenant des substrats déshydratés prêts à l'emploi, permettant l'identification des microorganismes grâce à des tests biochimiques, principalement glucidiques, protidiques et enzymatiques. Chaque type de galerie est accompagné d'un mode d'emploi et d'une fiche d'interprétation des résultats. Parmi les galeries API les plus couramment utilisées, on trouve : 20 E, 20 Staph, 10 NH, 50 CHB et 20 NE (BioMérieux, Lyon, France). Il est cependant nécessaire d'humidifier la galerie en ajoutant des gouttes d'eau stérile dans les cupules de la boîte pour éviter le dessèchement des tests.

1.3.2. Choix de la galerie:

Le choix de la galerie à utiliser dépend des critères suivants :

- La morphologie : cocci ou bacille ;
- Le type de coloration de Gram : positif ou négatif ;
- Le résultat du test de catalase ;
- Le résultat du test de cytochrome-oxydase ;
- La présence de spores (pour les bacilles Gram positif).

1.3.3. Technique:

- Prenez le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation (support en plastique) et répartissez de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Placez la galerie de manière stérile dans la boîte d'incubation ;
- Préparez l'inoculum ou la suspension bactérienne dans une ampoule pré-fournie ou un tube d'eau distillée physiologique selon les recommandations de la galerie (turbidité = 0,5 McFarland) ;
- Introduisez la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation de bulles d'air ;
- Pour les caractères soulignés, remplissez les cupules d'huile de paraffine ;
- Après l'incubation, consultez le tableau de lecture spécifique à chaque galerie pour interpréter les résultats ;
- Effectuez les tests nécessitant l'ajout de réactifs (Harrigan et al., 1976).

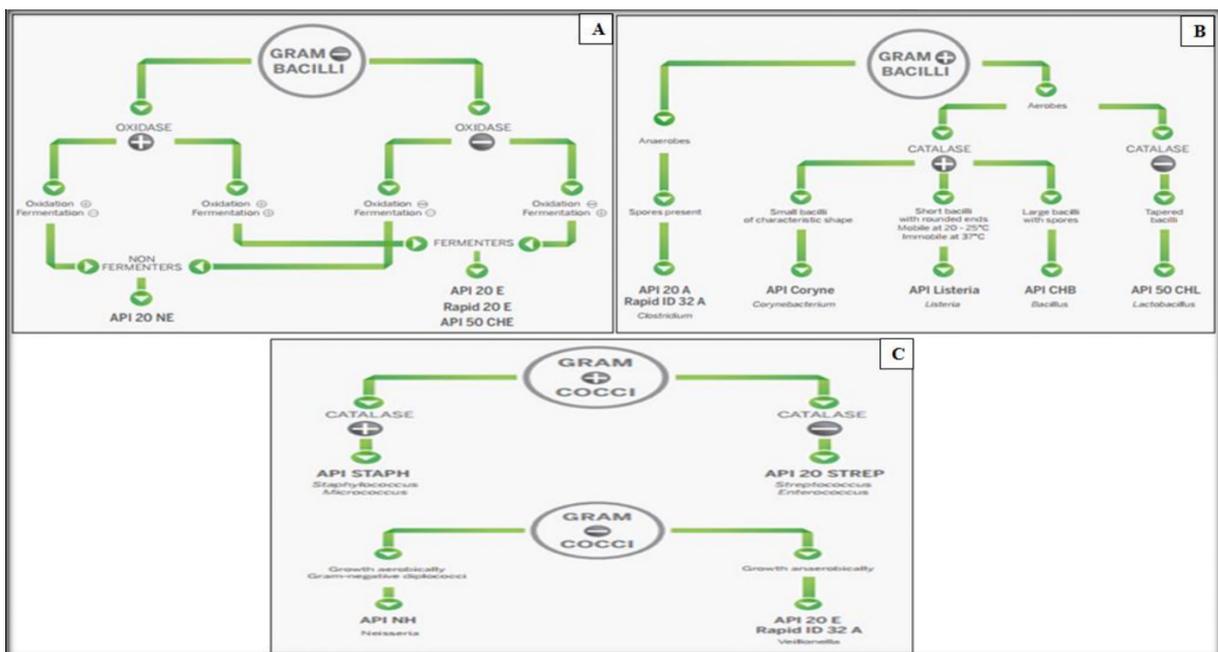


Figure N° 13: Guide de choix de la galerie Api (A- Guide pour les bacilles Gram négatif ; B- Guide pour les bacilles Gram positif ; C- Guide pour les cocci Gram positif et négatif).

E. Antibiogramme:

L'antibiotique a été découvert pour la première fois par le scientifique britannique <<Alexander Fleming >> (1881-1955). En effet, celui-ci a observé l'inhibition de la croissance d'une souche de staphylocoque par un champignon, le Penicillium. Il a alors

décidé de filtrer la culture de ce champignon, qu'il a nommée "pénicilline". Cette substance a démontré un puissant pouvoir bactéricide et une faible toxicité pour l'homme. Par conséquent, elle a été purifiée en 1940, marquant ainsi le début de l'ère des antibiotiques.

1. Définition:

Un antibiogramme est une analyse effectuée en laboratoire afin d'évaluer la sensibilité de souches bactériennes à divers antibiotiques. Cette méthode est employée pour personnaliser les traitements antibiotiques en pratique clinique.

2. But et principe:

L'objectif est d'évaluer la probabilité de succès d'une antibiothérapie sur une souche bactérienne isolée. Cette méthode implique de placer le micro-organisme en contact avec des disques de papier buvard contenant un antibiotique spécifique, à des concentrations précisées par la standardisation de l'antibiogramme selon les normes du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

3. La standardisation :

Utilisez une anse de platine pour prélever une ou deux colonies parfaitement identiques et bien isolées. Dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %, ensemencez les colonies, puis homogénéisez bien la suspension bactérienne, de sorte qu'elle équilibre 0,5 sur l'échelle de McFarland.

4. Etude de la sensibilité des souches antibiotique:

La sensibilité des souches est déterminée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur milieu Mueller Hinton, où les disques sont placés sur la surface de la gélose (Jehl et al. 2000).

L'ensemencement est réalisé immédiatement après la préparation de l'inoculum sur le milieu Mueller Hinton en introduisant un écouvillon stérile dans l'inoculum devant une flamme de bec Bunsen. L'écouvillonnage et l'étalonnage de toute la gélose doivent être effectués du centre vers le bord jusqu'à ce que toute la surface soitensemencée. Ensuite, les 5 disques d'antibiotiques sont appliqués sur chaque boîte de Pétri dès que possible, dans les 15 minutes suivant l'ensemencement, à l'aide d'une pince stérile, puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et comparés aux diamètres critiques.

5. Interprétation des résultats:

Les résultats de l'antibiogramme sont évalués en mesurant la zone d'inhibition (mm) qui apparaît ou non autour d'un disque d'antibiotique spécifique, en le comparant aux normes définies par la réglementation en vigueur. En pratique, les souches bactériennes testées peuvent être classées en trois catégories :

- **Sensible (S)** : indique une probabilité acceptable de succès thérapeutique lors d'un traitement à dose habituelle par voie générale. Une zone d'inhibition significativement large est observée.
- **Intermédiaire (I)** : indique une réponse thérapeutique imprévisible, avec une hétérogénéité dans la sensibilité, pour laquelle la seule valeur de la CMI n'est pas prédictive. La zone d'inhibition est de taille moyenne.
- **Résistant (R)** : indique une forte probabilité d'échec thérapeutique, quelle que soit la modalité de traitement. Aucune ou une faible zone d'inhibition n'est observée (Courvalin et al., 1985).

Conclusion

Conclusion :

L'étude du microbiote génital émerge comme un domaine d'intérêt significatif dans la recherche sur la fertilité bovine, étant donné le rôle crucial du microbiome en tant que barrière immunologique contre les pathogènes et pour la production de phéromones.

Chez les bovins, différents organes hébergent des populations microbiennes spécifiques. Outre l'intestin, le groupe qui a suscité le plus d'intérêt dans la recherche sur l'élevage est celui du tractus génital. Les questions spécifiques pouvant être explorées comprennent les rôles des différentes souches bactériennes dans le processus d'involution utérine chez les vaches post-partum. Une dysbiose peut conduire à des affections utérines, ce qui suggère que la modulation du microbiome vaginal pourrait constituer une alternative efficace aux antibiotiques. Par conséquent, l'administration intravaginale de probiotiques chez les vaches à risque d'infection représente une stratégie de gestion potentiellement efficace pour les infections utérines post-partum.

Reference

Bibliographies

Reference Bibliographies:

1. Al-Waiz, M.; Mikov, M.; Mitchell, S.C.; Smith, R.L. The exogenous origin of trimethylamine in the mouse. *Metabolism* 1992, 41,135–136.
2. Ametaj, B.N.; Iqbal, S.; Selami, F.; Odhiambo, J.F.; Wang, Y.; Gänzle, M.G.; Dunn, S.M.; Zebeli, Q. Intravaginal administration of lactic acid bacteria modulated the incidence of purulent vaginal discharges, plasma haptoglobin concentrations, and milk production in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 2014, 96, 365–370.
3. Azawi OI. (2008) postpartum uterine infection in cattle: A review. *Anim Reprod. Sci.*, 105, 187-208.
4. 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.* 2012, 157, 125–131.
5. Bondurant R. H, (1999) Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J. Dairy Sci.*
6. Bonnett BN, Martin SW, Meek AH. (1993) Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, 15, 205-220.
7. Bravo, J.A.; Forsythe, P.; Chew, M.V.; Escaravage, E.; Savignac, H.M.; Dinan, T.G.; Bienenstock, J.; Cryan, J.F. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 16050–16055.
8. Cattle. *Theriogenology*.
9. Cepurnieks, G.; Rjabova, J.; Zacs, D.; Bartkevics, V. The development and validation of a rapid method for the determination of antimicrobial agent residues in milk and meat using ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole–Orbitrap mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2015, 102, 184–192.
10. Chee, W.J.Y.; Chew, S.Y.; Than, L.T.L. Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microbe. Cell Fact.* 2020, 19, 203.
11. Clark, W.A.; Stevenson, W.G. Bacterial Flow of Uterus. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1949, 13, 92–93.
12. Collins, C.H., Grange, J.M. 1985. Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance. Academic Press.

13. Courvalin P., Goldstein P., Philippon A., Sirot J. 1985. L'antibiogramme. MPC Videom, Bruxelles.
14. David Noakes, Tim Parkinson, Gary England, (2001). Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. Eighth edition.
15. De Boer MW, Leblanc SJ, Dubuc J, et al. J Dairy Sci (2014). systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows. 17. Studer E, Morrow DA. J Am, (1978) Vet Med Assoc.
De Seta, F.; Parazzini, F.; De Leo, R.; Banco, R.; Maso, G.P.; De Santo, D.; Sartore, A.; Stabile, G.; Inglese, S.; Tonon, M.; et al. *Lactobacillus plantarum* P17630 for preventing Candida vaginitis recurrence: A retrospective comparative study. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2014, 182, 136–139.
16. Deng, F.; McClure, M.; Rorie, R.; Wang, X.; Chai, J.; Wei, X.; Lai, S.; Zhao, J. The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. J. Anim. Sci. Biotechnol. 2019, 10, 92.
17. Deng, Q.; Odhiambo, J.F.; Farooq, U.; Lam, T.; Dunn, S.M.; Ametaj, B.N. Intravaginal lactic Acid bacteria modulated local and systemic immune responses and lowered the incidence of uterine infections in periparturient dairy cows. PLoS ONE 2014, 10, e0124167.
18. Dominguez-Bello, M.G.; Costello, E.K.; Contreras, M.; Magris, M.; Hidalgo, G.; Fierer, N.; Knight, R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in new-borns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2010, 107, 11971–11975.
19. Esposito, G.; Raff Renato, E.; Lukamba, S.D.; Adnane, M.; Irons, P.C.; Cormican, P.; Tasara, T.; Chapwanya, A. Characterization of metabolic and inflammatory profiles of transition dairy cows fed an energy-restricted diet. J. Anim. Sci. 2020, 98, 98.
20. Esposito, G.; Raffrenato, E.; Lukamba, S.D.; Adnane, M.; Irons, P.C.; Cormican, P.; Tasara, T.; Chapwanya, A. Characterization of metabolic and inflammatory profiles of transition dairy cows fed an energy-restricted diet. J. Anim. Sci. 2020, 98, skz391.
21. Földi J, Kulcsár M, Pécsi A, Huyghe B, de Sa C, Lohuis JA, Cox P, Huszenicza G. (2006) Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. Anim Reprod. Sci., 96, 265-281.
22. 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. 2019, 102, 11786–11797.

23. Galvão, 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.* 2019, 102, 11786–11797.
24. Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat N (2005). Subclinical endometritis: Prevalence of endometritis and its effect on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*.
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* 2005, 146, 816–824.
26. Harrigan, W. F., McCance, M. E. 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press Inc. (London) Ltd.
27. INSTITUT D'ELEVAGE, (2008). Maladies des bovins. Edition France Agricole. 4^{ème} édition.
- Jay, J. M. 1992. Bioassay and Related Methods. In *Modern food microbiology* Springer Netherlands. pp.
28. Jembrek, M.J.; Vlainic, J. GABA Receptors: Pharmacological Potential and Pitfalls. *Curr. Pharm. Des.* 2015, 21, 4943–4959.
29. Jeon, S.J.; Neto, A.V.; Gobikrushanth, M.; Daetz, R.; Mingoti, R.D.; Parize, A.C.B.; de Freitas, S.L.; da Costa, A.N.L.; Bicalho, R.C.; Lima, S.; et al. Uterine Microbiota Progression from Calving until Establishment of Metritis in Dairy Cows. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015, 81, 6324–6332.
30. 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* 2017, 99, 41–47.
31. Kovachev, S. Defence factors of vaginal lactobacilli. *Crit. Rev. Microbiol.* 2018, 44, 31–39.
32. Kraipowich, N.R.; Morris, D.L.; Thompson, G.L.; Mason, G.L. Bovine abortions associated with *Bactéroides fragilis* fetal infection. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2000, 12, 369–371.
33. Laguardia-Nascimento, M.; Branco, K.M.G.R.; Gasparini, M.R.; Giannattasio-Ferraz, S.; Leite, L.R.; Araújo, F.M.G.; Salim, A.C.D.M.; Nicoli, J.R.; de Oliveira, G.C.; Barbosa-Stancioli, E. Vaginal Microbiome Characterization of Nelore Cattle Using Metagenomic Analysis. *PLoS ONE* 2015, 10, e0143294.

34. Mathys, S.; von Ah, U.; Lacroix, C.; Staub, E.; Mini, R.; Cereghetti, T.; Meile, L. Detection of the pediocin gene *pedA* in strains from human faeces by real-time PCR and characterization of *Pediococcus acidilactici* UVA1. *BMC Biotechnol.* 2007, 7, 55.
35. Messman, R.; 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.* 2020, 98, 9
36. 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.* 2016, 7, 1936.
37. Miranda-CasoLuengo, R.; Lu, J.; Williams, E.J.; Miranda-CasoLuengo, A.A.; Carrington, S.D.; Evans, A.C.O.; Meijer, W.G. Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endometritis. *PLoS ONE* 2019, 14, e0200974.
38. Moore, S.; Ericsson, A.C.; Poock, 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.* 2017, 100, 4953–4960.
39. Nicholas, R.; Ayling, R.; McAuliffe, L. *Mycoplasma Diseases of Ruminants: Disease, Diagnosis and Control*; CAB International: Oxfordshire, UK, 2008.
- Oliver, S.P.; Murinda, S.E. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2012, 28, 165–185.
40. Otero, C.; de Ruiz, C.S.; Ibañez, R.; Wilde, O.; Holgado, A.D.R.; Nader-Macias, M. Lactobacilli and Enterococci Isolated from the Bovine Vagina during the Estrous cycle. *Anaerobe* 1999, 5, 305–307.
41. Parkinson, T.J. Infertility and subfertility in the cow: Structural and functional abnormalities, management deficiencies and non-specific infections. In *Veterinary Reproduction and Obstetrics*; Noakes, D.E., Parkinson, T., England, G.C.W., Eds.; Saunders Elsevier: Shanghai, China, 2009; pp. 391–475.
42. Pascottini, O.B.; van Schyndel, S.J.; Spricigo, J.F.W.; Rousseau, J.; Weese, J.S.; Leblanc, S.J. Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Sci. Rep.* 2020, 10, 12353.
43. Pavaux C. (1981) Elément d’anatomie. In: Constantine A ; Meissonnier E, editors. L’utérus de la vache. Toulouse : Société Française de Buiatrie, 9-53.
44. Perry, G.; Perry, B. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2008, 34, 333–338.

45. Peter AT, Bosu WTK, Gilbert RO (1990). Absorption of Escherichia coli endotoxin (Lipopolysaccharide) from uteri of postpartum dairy cows. *Theriogenology*.
46. Philip Scott, Colin Penny ET Alastair Macrae, (2011). *Cattle médecines*.
47. Pr Christian Hanzen(2014). *Traitement des infections utérines chez la vache*.
48. Quadros, D.L.; Zanella, R.; Bondan, C.; Zanella, G.C.; Facioli, F.L.; da Silva, A.N.; Zanella, E.L. Study of vaginal microbiota of Holstein cows submitted to an oestrus synchronization protocol with the use of intravaginal progesterone device. *Res. Vet. Sci.* 2020, 131, 1–6.
49. Rodrigues, N.; Kästle, J.; Coutinho, T.J.D.; Amorim, A.T.; Campos, G.; Santos, V.; Marques, L.; Timenetsky, J.; de Farias, Qualitative analysis of the vaginal microbiota of healthy cattle and cattle with genital-tract disease. *Genet. Mol. Res.* 2015, 14, 6518–6528.
50. Romero, R.; Hassan, S.S.; Gajer, P.; Tarca, A.L.; Fadrosh, D.W.; Nikita, L.; Galuppi, M.; Lamont, R.F.; Chaemsathong, P.; Miranda, J.; et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* 2014, 2, 4.
51. Santos, T.M.A.; Gilbert, R.O.; Bicalho, R.C. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 291–302.
52. Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. (2009) Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.*, 81, 1025-1032.
53. Sheldon IM, Lewis GS, Leblanc S, et al (2006). Defining post-partum uterine disease in
54. Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
55. Sheldon IM, Lewis GS, Leblanc S, Gilbert RO, (2006). Defining post-partum uterine Disease in cattle. *Theriogenology*.
56. Sheldon, I.; Dobson, H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, 82, 295–306.
57. 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. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2019, 7, 361–384.

58. Sheldon, I.M.; Lewis, G.S.; LeBlanc, S.; Gilbert, R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006, 65, 1516–1530.
59. Sheldon, I.M.; Noakes, D.E.; Rycroft, A.; Dobson, H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.* 2001, 148, 172–175.
60. 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* 2002, 123, 837–845.
61. Shpigel, N.; Adler-Ashkenazy, L.; Scheinin, S.; Goshen, T.; Arazi, A.; Pasternak, Z.; Gottlieb, Y. Characterization and identification of microbial communities in bovine necrotic vulvovaginitis. *Vet. J.* 2017, 219, 34–39.
62. Singh, J.; Behal, A.; Singla, N.; Joshi, A.; Birbian, N.; Singh, S.; Bali, V.; Batra, N. Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. *Biotechnol. J.* 2009, 4, 480–494.
63. Srinivasan, M.; Adnane, M.; Archunan, G. Significance of cervico-vaginal microbes in bovine reproduction and pheromoneproduction—A hypothetical review. *Res. Vet. Sci.* 2021, 135, 66–71.
64. Stamm, W.E. Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a *Lactobacillus crispatus* probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection. *Clin. Infect. Dis.* 2011, 52, 1212–1217.
65. Stapleton, A.E.; Au-Yeung, M.; Hooton, T.M.; Fredricks, D.N.; Roberts, P.L.; Czaja, C.A.; Yarova-Yarovaya, Y.; Fiedler, T.; Cox, M.;
66. Tachedjian, G.; Aldunate, M.; Bradshaw, C.S.; Cone, R.A. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species invaginal health. *Res. Microbiol.* 2017, 168, 782–792.
67. 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.* 2008, 76, 2316–2324.
68. Ulrich, D.; Edwards, S.L.; Letouzey, V.; Su, K.; White, J.F.; Rosamilia, A.; Gargett, C.E.; Werkmeister, J.A. Regional Variation in Tissue Composition and Biomechanical Properties of Postmenopausal Ovine and Human Vagina. *PLoS ONE* 2014, 9, e104972.
69. Van der Burgt, G.; Clark, W.; Knight, R. Cattle fertility problems and *Histophilus somni*. *Vet. Rec.* 2007, 160, 600.

70. Wang, Y.; Ametaj, B.N.; Ambrose, D.J.; Ganzle, M.G. Characterisation of the bacterial microbiota of the vagina of dairy cows and isolation of pediocin-producing *Pediococcus acidilactici*. *BMC Microbiol.* 2013, 13, 19.
71. Wexler, H.M. Bactéroïdes: The Good, the Bad, and the Nitty-Gritty. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007, 20, 593–621.
72. Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. (2005) Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117.
73. Williams, E.; Fischer, D.; Noakes, D.; England, G.; Rycroft, A.; Dobson, H.; Sheldon, I. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology* 2007, 68, 549–559.