

République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun Tiaret
Institut des Sciences vétérinaires



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ابن خلدون تيارت
معهد علوم البيطرة



Polycopie de Reproduction Animale

Comprendre le Microbiome Génital et les Probiotiques Chez la Vache : Un Guide pour les Etudiants Vétérinaires

Présentée par

Mounir Adnane (MVM, DVM, PhD)

Année universitaire 2022-2023

Préface

L'étude du microbiome génital et des probiotiques chez les animaux domestiques a suscité une attention considérable ces dernières années, car les chercheurs et les praticiens cherchent à mieux comprendre les interactions complexes entre les microbes et la santé animale. Le microbiome est la communauté de microorganismes qui vivent sur ou à l'intérieur d'un animal, et des recherches récentes ont démontré que la composition du microbiome peut avoir des impacts significatifs sur la santé animale, la productivité et la prédisposition aux maladies. En particulier, le microbiome génital des vaches a été montré comme jouant un rôle critique dans la santé reproductive et la production de lait, en faisant ainsi un domaine d'étude important pour les chercheurs et les praticiens.

Ce document est conçu pour fournir aux étudiants universitaires un aperçu du microbiome génital et des probiotiques chez les vaches domestiques. Elle couvrira des sujets tels que les facteurs pouvant affecter le microbiome génital, le rôle des probiotiques dans le maintien d'un microbiome sain, et les avantages de maintenir un microbiome génital sain chez les vaches. En fournissant aux étudiants ces informations, nous espérons augmenter leur compréhension des interactions complexes entre les microbes et la santé animale, et promouvoir l'utilisation des probiotiques comme un outil de gestion des élevages laitiers.

Mounir Adnane (MVM, DVM, PhD)

Introduction générale

Le microbiome fait référence à la communauté complexe de micro-organismes qui vivent sur ou à l'intérieur d'un animal. Des recherches récentes ont démontré que le microbiome peut avoir des impacts significatifs sur la santé, la productivité et la susceptibilité aux maladies des animaux. En particulier, le microbiome génital des animaux domestiques, y compris les vaches, a suscité une attention considérable en raison de son rôle important dans la santé reproductive et la production laitière. Le microbiome génital se compose d'une communauté diverse de micro-organismes, comprenant des bactéries, des virus et des champignons, qui jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé et du bien-être des vaches. Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, peuvent conférer des avantages pour la santé de l'hôte. Chez les vaches, les probiotiques ont été démontrés pour soutenir un microbiome génital sain, ce qui peut entraîner une amélioration de la santé reproductive, une augmentation de la production laitière et une réduction de l'incidence des maladies. L'utilisation de probiotiques comme outil de gestion pour les vaches devient de plus en plus courante, car les éleveurs et les vétérinaires cherchent à optimiser la santé et la productivité des animaux. Ce document vise à fournir aux étudiants universitaires un aperçu du microbiome génital et des probiotiques chez les vaches. En comprenant les interactions complexes entre les micro-organismes et la santé des animaux, les étudiants peuvent devenir mieux équipés pour gérer et promouvoir la santé des animaux domestiques. Ce document couvrira les facteurs qui peuvent affecter le microbiome génital, le rôle des probiotiques dans le soutien d'un microbiome sain et les avantages du maintien d'un microbiome génital sain chez les vaches. En fournissant aux étudiants ces informations, nous espérons contribuer à la croissance de la recherche et des connaissances sur le microbiome et ses impacts sur la santé des animaux.

Sommaire

Préface	2
Introduction générale	3
Chapitre I Diversité du microbiome génital et ses implications dans la fertilité de la vache	6
1 Définition du microbiome génital.....	7
2 Population microbienne du tractus génital	7
3 Intérêt du microbiome génital	7
4 Les sources possibles de microbiomes génitaux chez les animaux	8
5 L'évolution de la flore bactérienne dans le tractus génital des animaux.....	8
6 La dynamique de microbiome de tractus génital.....	10
6.1. Le dogme classique	10
6.2. Les espèces bactériennes du tractus génital	10
7. Signification du microbiome génital dans la sante de la femelle	10
7.1. Acide lactique.....	10
7.2. Production de phéromone.....	11
8. Origine du microbiome génital	11
9. Diversité du microbiote génital	12
9.1. Vagin	12
7.1. Utérus.....	12
7. Les facteurs affectant la diversité du microbiome génital.....	12
7.1. Facteurs intrinsèques.....	13
a) Espèces.....	13
b) Race.....	15
c) Mode de mise bas	15
d) Cyclicité œstrale.....	16
e) Gestation.....	16
f) Postpartum	16
7.2. Facteurs extrinsèques	17
a) Nutrition.....	17
b) Pathologies génitales	17
8. Dysbiose et perturbation du microbiote génital	18
9. Intérêt de microbienne génitale dans la gestion de dysbiose.....	19
10. A retenir.....	20
Chapitre II Rôle des bactéries du tractus génital dans la promotion de la santé de l'endomètre chez les bovins	21
1. Introduction sur le microbiome génital.....	22
1.1. Relation entre microbiome digestive et utérin.....	22
1.2. Importance immunologique du microbiome génital.....	22

1.3.	Variation de la charge microbienne dans le tractus génital	22
1.4.	Dysbiose et pathologies du peripartum.....	23
2.	Microbiome Génital et Modulation de l'Inflammation de l'Utérus	23
3.	Microbiote génital et cyclicité.....	24
4.	Microbiome génital et gestion de reproduction	25
5.	Microbiome génital et la gestation.....	26
6.	Microbiome génital et les pathologies du postpartum	27
6.1.	Rétention placentaire	27
6.2.	Métrite	27
6.3.	Endométrite	28
7.	Microbiome génital et comportement animal.....	28
7.1.	Social et group identité.....	29
7.2.	Accouplement et comportement sexuel	29
7.3.	Comportement alimentaire	29
7.4.	Mucus cervico-vaginal et comportement sexuel.....	29
7.5.	Antibiothérapie intravaginale et comportement sexuel	30
8.	Microbiome du tractus génital et probiotiques	30
8.1.	Gestion des infections-urogénitales	31
8.2.	Gestion de stress.....	31
8.3.	Gestion des pathologies du postpartum.....	31
9.	Microbiome du tractus génital et prébiotiques	32
10.	A retenir	32
Chapitre III Signification des microbes cervico-vaginaux dans la reproduction bovine et la production de phéromones.....		34
1.	Introduction.....	35
2.	Biochimie du mucus cervico-vaginal.....	36
3.	Diversité de la population microbienne cervico-vaginale	36
3.1.	Microbes génitaux pendant le cycle œstral.....	37
3.2.	Microbiome génital pendant la gestation.....	38
4.	Rôle des microbes dans la production d'odeurs chez les mammifères.....	40
5.	Rôle des microbes de la CVM dans le cycle œstral et la production de phéromones	41
6.	A retenir.....	43
Conclusion générale		44
Références		45

Chapitre I

Diversité du microbiome génital et ses implications dans la fertilité de la vache

1 Définition du microbiome génital

Le terme microbiote englobe l'ensemble des micro-organismes qui colonisent un emplacement spécifique, comprenant non seulement des bactéries, mais également des champignons, des virus, des protozoaires et des archées ¹. Les vaches hébergent des bactéries dans leur utérus même avant le vêlage et établissent un microbiome endométrial distinct dans les 20 minutes suivant le vêlage. Le microbiome endométrial des vaches sans endométrite et celles qui développent une endométrite sont similaires jusqu'au moins le deuxième jour postpartum. Cependant, l'abondance relative de *Bacteroidetes* et de *Fusobacteria* est plus élevée et celle de *Proteobacteria* et *Tenericutes* est plus faible chez les vaches qui développent une endométrite ². De plus, le tractus génital de différentes espèces, y compris les bovins, contient un mélange de bactéries, de protozoaires, de champignons et de virus ³. L'infection utérine résulte généralement d'infections bactériennes mixtes, et les principaux agents pathogènes microbiens impliqués comprennent *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*), *Bacteroides spp.* et *Prevotella spp.* ^{4,5}.

2 Population microbienne du tractus génital

Les populations microbiennes de l'appareil génital sont hautement variables et les genres *Lactobacillus* et *Bacteroides* sont les plus prédominants dans la flore vaginale des femmes et des vaches, respectivement ^{6,7}. L'utérus possède un microbiome unique, en particulier pendant la gestation, lorsque le contenu cervical est isolé du contenu vaginal en raison du bouchon de mucus cervical présent pendant cette période ⁸. Un intérêt important s'est développé pour le microbiote de l'appareil génital ces dernières années au sein de la communauté scientifique, car le microbiote génital est considéré comme étant associé à l'infertilité ou aux maladies utérines.

3 Intérêt du microbiome génital

Le microbiome génital a des fonctions importantes dans l'appareil reproducteur féminin grâce à une compétition microbienne différentielle. Les micro-organismes symbiotiques créent un biofilm qui complète le mucus cervico-vaginal, protégeant ainsi l'appareil génital de l'invasion par des agents pathogènes ^{9,10}. De plus, les microbes commensaux produisent des molécules bioactives telles que l'acide lactique et les espèces réactives de l'oxygène qui inhibent la prolifération des pathogènes ¹¹.

Pendant la grossesse, certaines espèces de *Lactobacilles* confèrent une protection au fœtus et sont également associées à un accouchement normal, chez la femme ¹². Certaines études récentes se sont concentrées sur d'autres aspects de la fonction reproductive des bovins influencés par le microbiome génital, tels que la production de phéromones et la signalisation semio-chimique sexuelle entre le mal et la femelle ¹³.

4 Les sources possibles de microbiomes génitaux chez les animaux

Bien que les microbes génitaux soient supposés provenir de l'environnement ou de différents organes tels que le rumen, la peau, le rectum ou les excréments, le vagin est considéré comme la principale source de microfaune endométriale, en particulier pendant les périodes où la lumière cervicale est moins restreinte durant ; l'œstrus, la reproduction ou la parturition (Figure 1) ⁸.

Le mucus vaginal est moins visqueux pendant ces périodes, permettant à l'utérus d'être colonisé par diverses bactéries, champignons, virus et protozoaires d'origine vaginale ³. Il est à noter que les microbes peuvent également accéder à l'appareil génital par voie hématogène ¹⁴. Lors de la mise bas, les micro-organismes prévalant dans l'environnement affluent dans l'utérus des vaches. Du point de vue immunologique, ces micro-organismes sont reconnus comme étant pathogènes par le système de défense immunitaire de l'hôte, induisant ainsi une réponse pour éliminer les agents pathogènes. Typiquement, chez les bovins, il y a activation du système de défense de l'hôte pour l'élimination des bactéries lors de l'involution endométriale au cours des cinq premières semaines après la mise bas ¹⁵.

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

Il semble que la diversité du microbiome génital soit affectée par de nombreux facteurs, dont certains sont spécifiques à la femelle, tels que la cyclicité œstrale ¹⁶ et la gestation ¹⁷. Cependant, des facteurs extrinsèques tels que la nutrition ¹⁸ et les pathologies génitales ^{16,19} sont également importants. La majorité des bactéries du tractus génital sont non pathogènes et sont présentes en symbiose avec les entérocytes. Chez l'homme, l'altération de la diversité microbienne normale peut entraîner une dysbiose, infertilité ou des maladies génitales telles que la candidose vulvo-vaginale [20] [21]. Plusieurs études ont été menées sur la dysbiose du tractus génital chez les animaux que nous détaillerons ultérieurement [17,22].

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

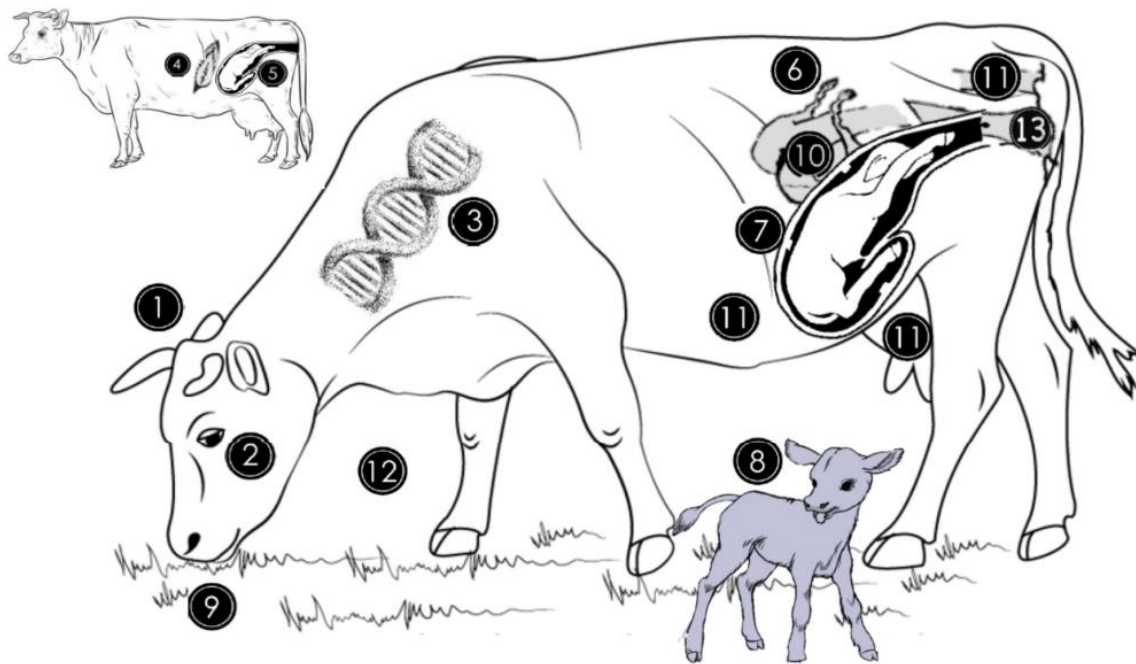


Figure 1. Origine du microbiote génital et facteurs pouvant affecter l'abondance et la diversité de la population microbienne ²⁰. *Le microbiote génital est hautement variable entre les espèces (1) et les individus de la même espèce (2). Par exemple, chez les bovins, le microbiote génital est différent entre les races Gyr, Nellore et Holstein (3). Le microbiote général du veau nouveau-né est similaire au microbiome cutané de la mère en cas de césarienne (4), et au microbiome vaginal en cas de parturition naturel (5). Les variations des concentrations d'hormones d'œstrogène et de progestérone pendant le cycle œstral influencent la croissance bactérienne dans le système génital en favorisant certaines espèces à différents moments (6). Pendant la gestation, la quantité et la diversité bactériennes diminuent tandis que l'abondance archéenne augmente dans le milieu vaginal (7). Les microbiomes vaginal et utérin des vaches indemnes de métrite au cours du premier mois postpartum sont similaires chez les vaches sans infections utérines, mais diffèrent de ceux avec des infections utérines (8). La qualité et la quantité alimentaires périnatales modifient le microbiome endométrial grâce à l'apport de nutriments énergétiques et protéiques (9). Le microbiome utérin entre 10 et 35 jours postpartum est similaire chez les vaches non diagnostiquées avec une endométrite subclinique et celles qui développeront une endométrite subclinique (10). Le rumen, la peau, le rectum ou les matières fécales (11) contribuent à l'établissement du microbiote génital, tandis que l'environnement (12) et la thérapie antibiotique intravaginale (13) peuvent également altérer le microbiote endométrial au cours de la vie de la femelle.*

Les découvertes révolutionnaires selon lesquelles le nouveau-né humain est exposé à des espèces bactériennes diverses, provenant de sources différentes selon le type d'accouchement, ont ouvert la voie à de nouvelles découvertes chez les animaux ²¹.

6 La dynamique de microbiome de tractus génital

6.1. Le dogme classique

Selon le dogme classique, l'environnement endométrial est stérile, en particulier pendant la gestation ²². Il est maintenant connu que lors de la mise bas, les microbes présents dans le lieu de vêlage peuvent accéder à l'utérus de la vache ^{23,24}. Pour identifier les espèces bactériennes de contamination, les laboratoires utilisent régulièrement des tests microbiologiques basés sur la culture bactérienne ²⁵. Le problème avec ce genre de teste, il ne permet d'isoler et identifier que les bactéries cultivables. L'intérêt croissant et rapide des techniques de séquençage de gènes signifient que des données de microbiome plus détaillées et précises sont maintenant facilement disponibles. Les résultats obtenus lors de l'utilisation des méthodes de séquençage révèlent que l'utérus des bovins, n'est pas stérile et contient une microflore dynamique ^{8,25,26}. Même pendant la gestation, lorsque le bouchon cervical est présent, ce qui isole la microbiome vaginale de celle de l'utérus, l'utérus des bovins contient une microbiome unique pendant la gestation ²⁵.

6.2. Les espèces bactériennes du tractus génital

Chez les bovins et les moutons, les phyla les plus courants dans le tractus génital sont les *Bacteroidetes*, les *Fusobacteria* et les *Proteobacteria* ¹⁰. Au niveau des genres, *Aggregatibacter spp.* et *Streptobacillus spp.* étaient les plus abondants. Fait intéressant, pour les populations microbiennes prédominantes dans le tractus génital humain, les *Lactobacillus spp.*, étaient présentes dans 80% et 90% des échantillons vaginaux de brebis et de vaches, respectivement ^{7,10,27}.

7. Signification du microbiome génital dans la sante de la femelle

Le microbiome du tractus génital des bovins est relativement peu exploré, en particulier en termes de classification taxonomique spécifique et d'aspect fonctionnel du microbiome, qui sont bénéfiques pour le développement de méthodes de diagnostiques. Les microbes génitaux chez l'homme et les animaux ont des fonctions protectrices contre les principaux agents pathogènes.

7.1. Acide lactique

Chez les femmes, les lactobacilles produisent de l'acide lactique, qui régule le pH vaginal et inhibe la prolifération des agents pathogènes ²⁸. À leur tour, les bactéries symbiotiques utilisent les sécrétions du tractus génital, telles que les sucres et les protéines de mucus, comme source de nutriments essentiels ¹¹. L'acide lactique induit également une acidification du milieu dans le vagin, ce qui interfère avec les fonctions intracellulaires, conduisant à l'élimination des microbes ²⁹.

Les résultats d'études *in vitro* ont révélé que *Chlamydia trachomatis* est inactivé lorsqu'il y a des concentrations normales d'acide lactique, ³⁰ tout comme *Neisseria gonorrhoeae* et *Escherichia coli* (*E. coli*) ^{31,32}.

L'un des avantages potentiels des bactéries commensales chez les femmes est la protection contre le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1). Il semble que les lactobacilles dans le vagin protègent les femmes contre la contraction du VIH-1 lors des rapports sexuels. L'acide lactique et le biofilm qui en résulte limitent le nombre de virions libres et réduisent ainsi l'excrétion du VIH ^{33,34}. *In vitro*, le VIH-1 est irréversiblement inactivé lorsqu'il est exposé à des concentrations normales d'acide lactique ³⁵. Cela peut être le mécanisme par lequel les lactobacilles confèrent une protection vaginale contre les agents pathogènes.

7.2. Production de phéromone

Le microbiome génital est également impliqué dans la signalisation socio-chimique chez différentes espèces grâce à la production de phéromones ^{13,36,37}. Les phéromones sont produites par le microbiome soit par la production directe de signaux phéromonaux, soit selon l'hypothèse de la fermentation, par laquelle les microbes métabolisent des composés organiques endogènes existants pour produire des composés hautement volatils ³⁸. Les résultats d'une étude sur les buffles ont indiqué une réponse répétitive de la réaction de Flehmen chez les mâles exposés au mucus vaginal des femelles en chaleur ³⁹. Fait intéressant, les phéromones élaborées varient avec la diversité du microbiome génital ^{13,40}. Nous allons détailler cette expérimentation intéressante ultérieurement.

8. Origine du microbiome génital

La composition du microbiome néonatal est déterminée par le mode de naissance et l'environnement ²¹. Chez l'homme, le microbiome général du nouveau-né délivré par voie vaginale est similaire au microbiome vaginal maternel, dominé par *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia spp.* Les bébés nés par césarienne ont un microbiome général similaire au microbiome cutané maternel, principalement composé de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium spp.* ²¹ (Figure 1).

Par conséquent, l'exposition initiale au microbiome maternel influence la charge microbienne et la diversité d'un individu ^{21,41}. Chez les bovins, des microbes tels que *Bacteroides* et *Enterobacteriaceae* présents dans le tractus génital et causant des maladies reproductives sont considérés comme provenant du tube digestif ou de l'environnement ^{42,43}. Les résultats de certaines études ont suggéré que le microbiome vaginal provient du système gastro-intestinal ⁴⁴, tandis que d'autres ont conclu que la population microbienne vaginale comprend des espèces de méthanogènes, et que par conséquent, le microbiome vaginal contribue à l'établissement du microbiote digestif ¹⁷. La voie hématogène est également une voie possible importante pour la contamination utérine par des pathogènes ⁸.

9. Diversité du microbiote génital

9.1. Vagin

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

Les vaches atteintes de maladies de la reproduction, comme l'écoulement vaginal purulent ont un microbiome vaginal plus diversifié contenant 68 taxons, dominé par *Bacteroides* (35,83%), *Enterobacteriaceae* (18,62%), *Histophilus* (8,79%), *Alistipes* (4,34%), *Flavobacteriaceae* (1,77%), *Victivallis* (8,49%), *Coriobacteriaceae* (2,44%), *Streptococcus* (2,09%), *Barnesiella* (2,03%), et *Oscilibacter* (1,24%) (Tableau 1) ⁶. Les résultats d'une autre étude ont indiqué que les *Enterobacteriaceae* non classées (21,05%), *Ureaplasma* (4,37%), et *Bacteroidaceae* non classées (2,49%) étaient les plus prédominants ¹⁷. Au niveau d'embranchement, les *Tenericutes* (36%), *Proteobacteria* (30%), *Fusobacteria* (7,6%), et *Firmicutes* (1,8%) étaient les plus abondants ⁴⁵. Dans l'étude de Deng et al. (2019), les *Firmicutes* (31,57%), *Proteobacteria* (24,08%), *Bacteroidetes* (12,96%), et *Tenericutes* (4,95%) étaient les plus prévalents dans le vagin. Une comparaison des résultats de ces deux études récentes révèle que les proportions des populations microbiennes prédominantes diffèrent significativement entre les individus.

7.1. Utérus

Il est maintenant connu que les vaches ont un microbiome naturel dans l'utérus pendant la période de gestation ^{25,46}. Bien que les microbes utérins proviennent principalement du vagin, et dans un degré de la peau et du tube digestif, ce microbiome n'est pas aussi diversifié que celui du vagin ⁴⁷. Les bactéries sont toujours présentes dans l'utérus. *F. necrophorum*, *Porphyromonas Levii* et *T. pyogenes* ont été détectés chez les vaches en gestation ²⁵. De manière intéressante, des microbes opportunistes, tels que *Histophilus* et *Mycoplasmataceae*, peuvent devenir pathogènes ^{48,49}. De plus, l'abondance bactérienne dans l'utérus avant le vêlage n'est pas associée à une inflammation, ce qui est indicatif d'une plus grande tolérance microbienne pendant la gestation ⁸.

7. Les facteurs affectant la diversité du microbiome génital

Le microbiome génital change au cours de la vie de la femelle. Les populations microbiennes dans les voies génitales des animaux sont naturellement sélectionnées en raison de différentes fonctions symbiotiques. Par exemple, chez les femmes, les *Lactobacilles* utilisent leurs petites extensions membranaires, c'est-à-dire les fimbriae, pour adhérer à la muqueuse génitale ⁵⁰. De même, le tissu vaginal est riche en collagène, une source précieuse de nutriments pour *Aggregatibacter spp.* ^{9,51}.

Il existe également d'autres facteurs qui affectent la diversité du microbiome génital, certains étant spécifiques à la phase du cycle reproductif féminin, et d'autres étant extrinsèques tels que la nutrition. De manière intéressante, le microbiome vaginal pourrait avoir été originaire du microbiome intestinal d'un point de vue évolutif, car il existe des similitudes marquées entre la population microbienne des deux parties anatomiques⁴⁴. Il semble que cette similarité microbienne est due au fait que le vagin et l'anus sont juxtaposés et que les matières fécales sont souvent en contact avec la vulve⁴⁴ [46].

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

Des découvertes récentes soutiennent notre hypothèse¹⁷ (Figure 1). Lorsqu'il y a eu une comparaison des changements de la population microbienne dans les échantillons de matières fécales et vaginaux prélevés avant la mise bas et à différents stades de la période gestationnelle, la diversité microbienne fécale était la même, mais le microbiome vaginal a changé de manière dynamique à différents stades de la période gestationnelle.

7.1. Facteurs intrinsèques

Il est supposé que la variation individuelle des espèces microbiennes dans le tractus génital des bovidés ait des effets sur la fertilité de la femelle⁴⁴. Cette variation pourrait être expliquée comment certains animaux développent une résistance et d'autres sont infectés par des maladies utérines. De telles différences sont supposées être courantes chez d'autres mammifères, y compris les humains (Figure 1)¹.

a) Espèces

Le microbiome génital est diversifié chez les espèces animales et également entre les individus, ce qui perturbe la régulation des hormones de reproduction (Figure 1)¹⁰. Par exemple, dans deux études distinctes utilisant soit des vaches atteintes d'endométrite, soit celles à qui on avait administré du lipopolysaccharide bactérien (LPS), les concentrations d'estradiol étaient plus faibles et la période jusqu'à l'ovulation était relativement prolongée pendant la phase folliculaire du cycle reproductif^{52,53}.

Les microbiomes vaginaux des bovins étaient composés d'une grande abondance d'*Enterococcus spp.*, de *Staphylococcus spp.* et de *Streptococcus spp.*, ce qui différait du microbiome vaginal des brebis où il y avait une prédominance de *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Escherichia spp.*, *Staphylococcus spp.* et *Streptococcus spp.* (Tableau 1)⁵⁴⁻⁵⁷.

Tableau 1. Richesse et diversité du microbiome vaginal chez les bovins ²⁰.

Facteur		Composition du microbiome génital	Références
Espèces	<i>Bos taurus</i>	Embranchement : <i>Proteobacteria</i> , <i>Fusobacteria</i> , et <i>Bacteroidetes</i> . Genre : <i>Aggregatibacter spp.</i> , et <i>Streptobacillus spp.</i> <i>Lactobacilli</i> , <i>Sneathia spp.</i> , <i>Porphyromonas spp.</i> , et <i>Prevotella spp.</i>	7,10
	Holstein	Embranchement: <i>Firmicutes</i> , <i>Tenericutes</i> , <i>Proteobacteria</i> , et <i>Bacteroidetes</i> <i>Actinobacteria</i> et <i>Spirochaetae</i>	58
Race	Gyr	Genre de bactéries : <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> , et <i>Actinobacteria</i> Genre de champignons : <i>Mycosphaerella</i> et <i>Cladosporium</i> . Genre des archaea : <i>Methanobrevibacter</i> genus.	59
	Nellore	Bactéries : <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> et jusqu'à 20% de bactéries non classées Champignons: <i>Mycosphaerella</i> Archaea: <i>Methanobrevibacter</i>	44
	Phase Folliculaire (estradiol élevé)	<i>Pasteurellaceae unclassified</i>	45
Cycle œstral	Phase lutéale (faible estradiol)	Diversité élevée <i>Bacteroidete spp</i> , <i>Histophilus somni</i> , <i>Actinobacillus seminis</i> et <i>Fusobacterium</i> non classée	44,45,54 45
	Gestante	Microbiome stable durant la période de gestation <i>Pasteurella multocida</i>	17 45
Gestation	Non gestante	<i>Pasteurellaceae spp</i> <i>Fusobacterium spp</i> <i>Histophilus somni</i> , <i>Clostridiaceae 02d06</i> , et <i>Campylobacter</i>	45 17
	Avortement	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Trueperella pyogenes</i>	60 61
	Premiers 35 jours postpartum	<i>Porphyromonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Schlegelella</i> , <i>Paracoccus</i> et <i>Fusobacterium</i> .	62
Postpartum	Premiers 50 jours postpartum	Similaire entre les individus Riche en <i>Firmicutes</i>	63
	Indemne d'infection utérine		<i>Bacteroides</i> (28.3%), <i>Enterobacteriaceae</i> (17.8%), <i>Victivallis</i> (7.2%), <i>Streptococcus</i> (6.1%), <i>Phyromonadaceae</i> (5%), <i>Alistipes</i> (3.9%), <i>Coriobacteriaceae</i> (3.3%), <i>Clostridium</i> (3.3%), <i>Betaproteobacteria</i> (2.8%), <i>Corynebacterineae</i> (2.8%), <i>Cytophagaceae</i> (2.8%), <i>Oscillibacter</i> (2.8%), et <i>Planctomycetaceae</i> (2.8%)
		<i>Enterobacteriaceae</i> non classifiée (21.05%), <i>Ureaplasma</i> (4.37%) et <i>Bacteroidaceae</i> non classifiée (2.49%) <i>Firmicutes</i> (31.57%), <i>Proteobacteria</i> (24.08%), <i>Bacteroidetes</i> (12.96%), et <i>Tenericutes</i> (4.95%)	17
		Embranchement: <i>Tenericutes</i> (36%), <i>Proteobacteria</i> (30%), <i>Fusobacteria</i> (7.6%), et <i>Firmicutes</i> (1.8%)	45
		<i>Firmicutes</i> sont les plus prédominantes	63
		<i>Bacteroides</i> (35.83%), <i>Enterobacteriaceae</i> (18.62%), <i>Histophilus</i> (8.79%), <i>Alistipes</i> (4.34%), <i>Flavobacteriaceae</i> (1.77%), <i>Victivallis</i> (8.49%), <i>Coriobacteriaceae</i> (2.44%), <i>Streptococcus</i> (2.09%), <i>Barnesiella</i> (2.03%), et <i>Oscillibacter</i> (1.24%)	6
Infection utérine	Avec infections utérines (toutes formes confondues)	Un faible ratio de <i>Firmicutes</i> a <i>Bacteroidetes</i> Riche en <i>Bacteroides</i> , <i>Helcococcus</i> et <i>Fusobacterium</i>	63
	Métrite	Diversité microbienne limitée Abondance de <i>Bacteroides</i> , <i>Porphyromonas</i> , et <i>Fusobacterium</i> Riche avec <i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Porphyromonas levii</i> , et <i>Prevotella melaninogenica</i>	8,64 65
Endométrite clinique		Abondance d' <i>Escherichia coli</i>	8,66
		Diversité microbienne limitée Prévalence élevée de <i>Fusobacterium</i> et <i>Trueperella</i> Abondance limitée d' <i>Escherichia</i> , <i>Shigella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Schlegelella</i> , et <i>Streptococcus</i>	62,63
		Prevalence élevée d' <i>Anaerococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , et <i>Staphylococcus</i>	62,63
		Diversité microbienne limitée Abondance de <i>Bacateroidetes</i>	67
Nutrition	Déficit énergétique autour du vêlage	<i>Bacteroidetes</i> et <i>Fusobacteria</i>	18

De point de vue d'embranchement, les microbiomes génitaux chez les vaches et les brebis étaient composés principalement de *Proteobacteria*, *Fusobacteria* et *Bacteroidetes*. Au niveau des genres, *Aggregatibacter spp.*, et *Streptobacillus spp.*, étaient les espèces les plus prédominantes ¹⁰. Bien que les *Lactobacilles* soient détectés chez 80% des brebis et 90% des vaches, la population microbienne totale est moins abondante, ce qui conduit à un environnement vaginal presque neutre par rapport à l'environnement acide chez les femmes où il y a une grande population de *Lactobacilles* ¹⁰. En plus des *Lactobacilles*, les vaches et les brebis partagent plusieurs genres, principalement *Sneathia spp.*, *Porphyromonas spp.* et *Prevotella spp.*, ^{7,10}. Un faible ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* est un indicateur précoce des vaches qui développeront ultérieurement une endométrite postpartum ⁶³.

b) Race

Chez les bovins Gyr, une race laitière courante dans les pays d'Amérique du Sud tels que le Brésil, le microbiome vaginal est enrichi en bactéries et en champignons, tandis qu'il y a une petite population d'archées (Figure 1) ⁵⁹. Parmi les bactéries, les embranchements *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* ont été les plus fréquemment détectés. Les genres fongiques les plus fréquemment détectés étaient *Mycosphaerella* et *Cladosporium*. Bien que les archées étaient en faible abondance, le genre *Methanobrevibacter* était le plus abondant (Tableau 1).

Chez la race viandeuse Nellore, le microbiome vaginal est principalement composé de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et jusqu'à 20% de bactéries non classées ⁴⁴. *Mycosphaerella* était le genre fongique le plus abondant, tandis que *Methanobrevibacter* était le genre archéen prédominant.

Chez les bovins Holstein Friesian, la race la plus ubiquiste en matière de production laitière en Afrique du Nord, en Europe et aux États-Unis, le microbiome vaginal était principalement composé des embranchements *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria* et *Bacteroidetes*. D'autres bactéries ont été détectées en quantités plus petites, telles que les *Actinobacteria* et les *Spirochaetae* ⁵⁸.

c) Mode de mise bas

Le type de parturition est l'un des principaux facteurs affectant la diversité du microbiome génital ²¹. Le microbiome général du nouveau-né est similaire au microbiome cutané maternel si la mise bas est faite par césarienne et similaire au microbiome vaginal s'il s'agit d'une mise bas naturel (Figure 1). Les communautés bactériennes établies tôt fournissent une protection contre les bactéries pathogènes qui peuvent être des agents infectieux pour le nouveau-né.

Alors que le vagin maternel est la principale source de microbiome naturel, un microbiome néonatal unique est établi peu de temps après la mise bas avec des microbes provenant d'autres sources. Par exemple, en cas de césarienne, le nouveau-né a une prévalence plus élevée d'infections cutanées à *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) résistant à la méticilline (MRSA) (64-82 %) par rapport aux nouveau-nés d'une mise bas naturel ²¹.

d) Cyclicité œstrale

Les cycles œstraux chez les bovins sont régulés par des changements de concentration hormonale avec des concentrations relativement plus élevées d'œstradiol pendant le pro-œstrus et l'œstrus et des concentrations relativement plus élevées de progestérone pendant le mét-œstrus et le di-œstrus, ayant des effets considérables sur le pH vaginal chez les mammifères ^{68,69}.

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

Les résultats d'une étude récente ont indiqué que les populations de *Bacteroidete spp*, *Histophilus somni*, *Actinobacillus seminis* et *Fusobacterium* non classés augmentent lorsque les concentrations d'œstradiol sont relativement plus faibles dans le milieu vaginal (Tableau 1) ⁴⁵. Lorsqu'il y a des concentrations d'œstradiol relativement plus élevées dans le milieu vaginal, les *Pasteurellaceae* non classées sont les bactéries les plus prédominantes dans le vagin. De même, lorsque les concentrations de progestérone sont plus élevées, les populations microbiennes dans le vagin sont relativement plus grandes ^{44,54}.

e) Gestation

Pendant la période de gestation, il y a une faible diversité microbienne au niveau vaginal et une plus grande population archéenne ⁴⁴. Les espèces bactériennes présentes dans le vagin pendant la période de gestation sont moins diverses en raison de la concentration relativement élevée de progestérone qui entraîne la suppression de la population microbienne vaginale (Figure 1) ⁵⁴. La population microbienne relativement faible dans le vagin pendant la période de gestation pourrait entraîner un risque accru de dysbiose et d'avortement. De même, chez la femme, la population microbienne dans le vagin diminue à mesure que la durée de grossesse augmente ^{70,71}. Contrairement à la femme, le microbiome vaginal des bovins est relativement stable tout au long de la période de gestation ¹⁷. Chez les génisses non gestantes, les espèces de *Pasteurellaceae* et de *Fusobacterium* étaient abondantes dans le vagin, tandis que les génisses gestantes avaient une prévalence plus élevée de *Pasteurella multocida* (Tableau 1) ⁴⁵.

f) Postpartum

Une grande variation entre les individus a été signalée dans le microbiome utérin des vaches sans infection utérine au cours du premier mois postpartum (DPP) ^{62,63}. La diversité bactérienne étant similaire chez les vaches sans inflammation utérine et celles avec inflammation utérine à 10, 21 et 35 JPP; cependant, le microbiome utérin était nettement différent entre les deux groupes (Figure 1) ⁶². Sur la base des résultats d'une analyse métagénomique de prélèvements utérins prélevés 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 *Fusobacterium* (Tableau 1) ⁶².

Les microbiomes vaginaux et utérins des vaches sans inflammation utérine au cours des 50 premiers JPP étaient similaires et hautement enrichis en *Firmicutes*⁶³. Cette découverte peut s'expliquer par le fait que peu de temps après le vêlage, la lumière cervicale est moins constrictif, ce qui entraîne un mélange du milieu vaginal et utérin avec un mouvement de ces contenus dans tout le tractus reproductif. Nous émettons l'hypothèse que chez les vaches sans inflammation utérine, le microbiome génital n'est pas contaminé lors du vêlage par le microbiome externe ou du moins n'est pas affecté pendant une période prolongée après le vêlage.

Une comparaison du microbiome génital des vaches gestantes avant le vêlage rétrospectivement avec celles qui développent une endométrite après 21 JPP par rapport à celles qui continuent à avoir un utérus non infecté a révélé que le microbiome génital avant le vêlage était similaire au microbiome vaginal des vaches en bonne santé qui n'ont pas développé d'infections utérines ultérieurement à 21 JPP⁶³.

7.2. Facteurs extrinsèques

a) Nutrition

La population microbienne de l'utérus des vaches laitières pendant la période postpartum est affectée par la qualité de l'alimentation, en particulier la teneur en énergie, autour du moment de la mise bas (Figure 1)¹⁸. Les vaches qui ont reçu 80% des besoins énergétiques ont présenté une inflammation utérine, et les espèces prédominantes du microbiome utérin étaient *Bacteroidetes* et *Fusobacteria* (Tableau 1). Une comparaison du microbiome utérin avant et après la mise bas chez les vaches qui ont développé une métrite avec celles qui n'ont pas contracté de métrite a indiqué que les vaches atteintes de métrite avaient principalement des *Bacteroides* et des *Fusobacteria* et une faible abondance de *Proteobacteria* et *Tenericutes*, ce qui était nettement différent de celles qui n'avaient pas de métrite⁸.

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

b) Pathologies génitales

Endométrite

Il est intéressant de noter que les vaches atteintes d'endométrite subclinique ont un microbiome utérin similaire à celui des vaches sans inflammation utérine entre 10 et 35 JPP; cependant, les vaches atteintes d'endométrite clinique présentaient une composition de microbiome différente par rapport aux deux autres groupes (Figure 1)⁶².

Les vaches atteintes d'endométrite clinique ont une diversité bactérienne réduite caractérisée par une plus grande prévalence de *Fusobacterium* et *Trueperella* associée à une moindre abondance d'*Escherichia*, *Shigella*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Schlegella* et *Streptococcus* par rapport aux vaches sans inflammation utérine et à celles avec une endométrite subclinique (Tableau 1)^{62,63}. Ce dernier groupe présentait une

prévalence relativement plus élevée d'*Anaerococcus*, *Corynebacterium* et *Staphylococcus* par rapport aux vaches atteintes d'endométrite clinique.

La population microbienne de l'utérus et du vagin à 7 JPP est associée au risque de développer une endométrite clinique après 21 JPP ⁶³. Le microbiome vaginal à 7 JPP chez les vaches atteintes d'endométrite est fortement enrichi en *Bacteroides*, *Helcococcus* et *Fusobacterium*, contrairement aux vaches sans inflammation utérine où les *Firmicutes* sont les plus prédominants. Les comparaisons des microbiomes utérins et vaginaux chez ces animaux ont indiqué qu'à 7 JPP, la composition microbienne est similaire entre les deux compartiments, mais cette similitude est moins importante entre 21 et 50 JPP ⁶³. Ces résultats confirment que le microbiome génital des vaches à risque de développer une endométrite n'est pas complètement établi pendant le premier mois postpartum, contrairement aux vaches sans inflammation utérine où les microbiomes utérin et vaginal sont bien établis dès le septième jour postpartum ⁶³.

Métrite

La métrite, qui se manifeste par une inflammation marquée de l'endomètre et du myomètre peu de temps après le vêlage et avant le 21^{ème} JPP, est caractérisée par une quantité relativement plus faible de microbiome vaginal et une abondance relative plus élevée de *Bacteroides*, *Porphyromonas* et *Fusobacterium* (Tableau 1) ^{8,64}. De même, les vaches atteintes de métrite ont un microbiome utérin nettement enrichi en *F. necrophorum*, *Porphyromonas levii* et *Prevotella melaninogenica* par rapport aux vaches sans métrite ⁶⁵.

E. coli est une autre bactérie intéressante détectée tôt postpartum chez la plupart des vaches, car la présence de ce microbe est importante pour le développement de *F. necrophorum*, ce qui conduit à la métrite, tandis que cette dernière bactérie est souvent détectée en association avec *T. pyogenes* dans le cas d'endométrite ^{8,66}.

Chez les femmes atteintes d'une atrophie vaginale légère ou modérée, la population microbienne vaginale a tendance à être principalement composée d'agents pathogènes invasifs, principalement *Streptococcus* et *Prevotella* ⁷².

Les microbiomes des bovins diagnostiqués avec une vulvovaginite nécrotique (BNVV), par rapport à ceux qui n'ont pas été diagnostiqués avec BNVV, sont caractérisés par une diversité microbienne relativement élevée et une grande abondance de *Bacteroidetes* ⁶⁷.

8. Dysbiose et perturbation du microbiote génital

La dysbiose bactérienne est une condition inflammatoire caractérisée par la présence de populations mixte de microbes commensaux en abondance modérée ou l'absence complète de ces microbes commensaux. Chez l'homme, la vaginose bactérienne, un type de dysbiose, est caractérisée par la prédominance de certaines espèces de microbes anaérobies stricts et facultatifs associées à une faible abondance ou une absence complète de *Lactobacilles* et une population microbienne plus importante dans le microbiote vaginal ^{70,73}.

Les résultats d'une étude menée pour étudier si les microbes qui étaient prédominants dans le vagin avant l'accouplement pouvaient prédire les femelles qui deviendront gestantes ont révélé que *Histophilus somni*, *Clostridiaceae* 02d06 et *Campylobacter* étaient abondants chez les vaches qui n'ont pas réussi à concevoir (Tableau 1) ¹⁷.

Les bactéries commensales présentes dans le tractus génital, principalement le vagin chez les femelles sans inflammation utérine, ont des fonctions importantes dans le tractus génital en supprimant l'infection par des pathogènes majeurs par différents mécanismes, principalement par l'effet de compétition en occupant des récepteurs spécifiques auxquels les microbes pathogènes se lient pour entrer dans les cellules et en sécrétant des molécules immunitaires actives telles que l'acide lactique ¹¹.

Il est intéressant de noter que l'absence ou la diminution de l'abondance de *Lactobacilles* dans le tractus génital des femmes enceintes est associée à un pH vaginal plus bas, ce qui entraîne une croissance excessive de microbes plus pathogènes ^{7,74}. La réaction inflammatoire est donc induite et l'interleukine 8 (IL-8) est sécrétée en grandes quantités, ce qui entraîne avortement ou un accouchement prématuré ⁷⁴.

Chez les vaches gestantes, la taille de la population de *S. aureus* est associée au risque d'avortement, tandis que ce pathogène est rarement isolé chez les vaches qui ont une durée typique de gestation ⁶⁰. *T. pyogenes* est un autre pathogène majeur associé à l'avortement au cours de la dernière moitié de la gestation ⁶¹. Bien que les *Fusobactéries* et les *Bactéroïdètes* soient des flores communes du tractus génital chez les vaches avec ou sans inflammation utérine, il est important de prévenir la croissance excessive de ces bactéries pour prévenir les infections du tractus reproducteur ⁸.

Le traitement antibiotique intravaginal affecte le microbiote génital, entraînant une dysbiose. Les chiennes traitées par des antibiotiques intravaginaux pendant l'œstrus sont moins susceptibles d'attirer les mâles lorsqu'elles sont en chaleur par rapport aux femelles non traitées par des antibiotiques (Figure 1) ⁷⁵. Les changements de comportement sexuel seraient le résultat de changements dans la diversité microbienne et dans le signal sémio-chimique émis par le microbiome modifié en raison du traitement antibiotique.

9. Intérêt de microbienne génitale dans la gestion de dysbiose.

Le traitement des maladies reproductives chez les bovins est un défi pour les vétérinaires et les éleveurs. Par exemple, le traitement antibiotique de la métrite ne permet de guérir que 67% à 77% des cas présentant des symptômes cliniques, mais la fertilité continue d'être compromise ⁷⁶. La modulation du microbiome génital à l'aide de probiotiques devient une stratégie efficace chez l'homme ⁷⁷⁻⁷⁹. L'administration de bactéries lactiques par voie intravaginale permet de modifier le microbiome utérin ⁸⁰, tandis que l'administration intravaginale de *L. plantarum* P17630 permet de prévenir la candidose vulvo-vaginale récurrente ⁷⁷. De même, *L. crispatus* administré par voie intravaginale est efficace dans la gestion des infections urinaires récurrentes ⁷⁸.

Chez les bovins, le traitement intravaginal avec un mélange de bactéries lactiques, *L. rhamnosus* CECT 278, *Pediococcus acidilactici* CECT 5,915 et *L. reuteri* DSM 20016, trois semaines avant le vêlage, entraînent une diminution de la prévalence de la métrite de 58% ⁷⁹. Le traitement probiotique à base de bactéries lactiques modifie la réaction inflammatoire diminuant la section de L-sélectine. La protéine L-sélectine est impliquée dans l'infiltration des neutrophiles dans le tissu infecté et l'expression du gène du récepteur du facteur de nécrose tumorale (TNF-R) qui module les processus de dégranulation et de phagocytose ^{79,81,82}. Cette réduction de l'activité des neutrophiles pourrait être le résultat d'une réduction des bactéries pathogènes dans le tractus génital due à un effet de compétition des bactéries lactiques ou par coagrégation avec des microbes pathogènes réduisant l'adhérence de ces pathogènes à des récepteurs spécifiques à la surface cellulaire ^{79,83}.

Les résultats des études *in vivo* et *ex vivo* ont révélé que l'association de *L. rhamnosus*, *Pediococcus acidilactici* et *L. reuteri* réduit le profil inflammatoire des cellules épithéliales de l'endomètre lorsque *E. coli* est administré dans le milieu de culture ⁸⁴. De même, la croissance de *S. aureus*, l'un des principaux pathogènes impliqués dans les infections postpartum chez les bovins laitiers, est inhibé *in vitro* sous traitement avec *L. gasseri* CRL1421 et CRL1412 ⁸⁵.

10. A retenir

- Le microbiote génital représente un champ d'étude opportun dans le domaine de la fertilité bovine lorsqu'on considère que le microbiome est une barrière immunologique essentielle contre les pathogènes et pour la production de phéromones.
- En cas de dysbiose, des maladies utérines peuvent survenir ; ainsi, la modulation du microbiome vaginal peut être une alternative efficace aux thérapies antibiotiques.
- L'inoculation intravaginale des bovins à risque d'infection représente une possible gestion probiotique des infections génitales utérines postpartum.

Chapitre II

**Rôle des bactéries du tractus génital dans la
promotion de la santé de l'endomètre chez
les bovins**

1. Introduction sur le microbiome génital

Les organes et systèmes mammaliens abritent un microbiome complexe et dynamique, en particulier dans les tractus génital et digestif. Chez les bovins, le microbiome du tractus génital exerce une influence importante sur la santé et l'homéostasie de l'endomètre, et la fertilité.

1.1. Relation entre microbiome digestive et utérin

De nombreux facteurs contribuent à la colonisation de l'utérus par un microbiome diversifié. Le microbiome intestinal est considéré comme l'un des principales sources de bactéries, de virus et de protozoaires qui colonisent le tractus génital ⁴⁴. Le microbiote intestinal fournit des acides gras volatils et des acides aminés essentiels impliqués dans la communication sexuelle chez les souris. Le microbiote ruminal produit des enzymes pour décomposer les molécules complexes des aliments en molécules plus simples assimilables dans l'intestin. À leur tour, les hôtes fournissent des conditions optimales pour la croissance et la prolifération des microbes ⁸⁶. Nous pensons qu'une relation similaire existe dans le tractus génital des bovins.

1.2. Importance immunologique du microbiome génital

Des biomolécules telles que le mucus vaginal ou les protéines de défense de l'hôte jouent un rôle crucial dans la modulation des réponses immunitaires à ces micro-organismes. Le microbiome du tractus génital offre de nombreux avantages à l'hôte, grâce à une gamme de fonctions physiologiques telles que le maintien de l'intégrité de l'épithélium de l'endomètre, la protection contre les pathogènes et la régulation de l'immunité de l'hôte ^{8,47,50}. Par exemple, chez les femmes, *Lactobacillus*, abondant dans le vagin, protège la muqueuse vaginale en empêchant l'adhérence des pathogènes grâce à un effet de compétition ^{50,87}. Dans cette relation symbiotique, *Lactobacillus* utilise les sécrétions du tractus génital, telles que les glucides de la mucine, comme source de nutrition. À leur tour, *Lactobacillus* sécrète des molécules immuno-actives telles que l'acide lactique et le peroxyde d'hydrogène qui empêchent la prolifération de bactéries pathogènes ^{11,88}.

Le microbiome naturel est bénéfique pour l'hôte en produisant un biofilm, en association avec les sécrétions de l'hôte telles que le mucus vaginal qui protège les tissus sous-jacents de l'invasion pathogène ¹⁰. Les *Lactobacillus* peuvent co-agrégier avec les pathogènes, ce qui les empêche d'adhérer à leurs récepteurs ou ligands dans la muqueuse de l'hôte. De plus, certaines de ces bactéries produisent de l'acide lactique, ce qui réduit le pH vaginal et donc interfère avec la prolifération et la survie des pathogènes ²⁸. À une concentration normale, l'acide lactique peut inactiver, in vitro, différents agents pathogènes, y compris *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Escherichia coli* (*E. coli*) ³⁰⁻³².

1.3. Variation de la charge microbienne dans le tractus génital

Les avancées récentes en microbiologie permettent maintenant d'identifier toutes les bactéries présentes dans les tissus ou les organes jusqu'au niveau des embranchements ou des genres. L'analyse génétique basée sur la

région ribosomique ribonucléique bien conservée 16S permet de détecter avec précision les microbes dans les organes tels que l'utérus pendant la gestation qui étaient auparavant considérés comme stériles. Des bactéries ont été détectées dans l'utérus de génisses vierges et de vaches gestantes qui étaient cliniquement en bonne santé sans risque de complications gestationnelles ⁴⁶.

La charge et la diversité du microbiome vaginal et utérin sont hautement dynamiques et sont influencées par des facteurs tels que l'origine de la contamination, le mode de vêlage, la nutrition et les complications postpartum ²⁰. La contamination fécale et les microbiomes vaginaux sont les principales sources de colonisation endométriale contribuant au microbiome génital normal des vaches et aux infections possibles ^{8,44,89}.

Le séquençage de la région V3-V4 de l'ARN ribosomique 16S de lavage cervico-vaginal a révélé que le microbiome vaginal normal comprend les embranchements bactériens *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* et *Proteobacteria*, en association avec l'ordre archéen *Desulfurococcales* ^{10,90}. Les *Lactobacillus* spp., sont présents à faible taux chez 90% des vaches postpartum ^{10,91}.

1.4. Dysbiose et pathologies du peripartum

Des perturbations de l'équilibre naturel au sein des populations de microbiomes génitaux conduisent à une dysbiose et à des maladies génitales qui compromettent la fertilité des femmes ^{19,90,92-94}. Par exemple, *Gardnerella vaginalis*, une bactérie hautement pathogène, produit une sialidase extracellulaire, une puissante enzyme qui hydrolyse l'acide sialique des sialoglycoprotéines en molécules bioactives telles que l'immunoglobuline A sécrétée (IgA), interférant ainsi avec l'efficacité du système immunitaire et augmentant le risque d'infection par d'autres agents pathogènes ⁹⁵. La présence de *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, les espèces d'*Ureaplasma* et les souches Gram-négatives dans le tractus génital des femmes perturbent la fertilité ⁹⁴.

Les études rapportent que de nombreux facteurs affectent la charge microbienne et la diversité ; cependant, il n'est pas encore clair comment le microbiome affecte la fertilité animale. Dans ce chapitre, nous examinons l'interaction des microbiomes génitaux avec les tissus hôtes notamment au niveau de l'utérus et le vagin. A travers ce chapitre l'étudiant peut comprendre comment la fertilité des bovins est affectée par le microbiome génital et arrive à développer des stratégies possibles pour améliorer la reproduction et la gestion de la santé, y compris l'utilisation de prébiotiques et de probiotiques.

2. Microbiome Génital et Modulation de l'Inflammation de l'Utérus

Pendant le vêlage, la dilatation du col de l'utérus entraîne l'influx bactérien et la contamination de l'utérus. Chez les vaches qui développent une endométrite, les bactéries présentes dans l'utérus après le vêlage peuvent être soit des agents étiologiques, soit des infections secondaires ⁹⁶.

Des méthodes moléculaires ciblant le gène de l'ARNr 16S dans les échantillons vaginaux et utérins ont révélé que la prévalence élevée de bactéries pathogènes telles que *Fusobacterium* et *Corynebacterium* était couramment associée à la métrite, l'endométrite et l'infertilité ^{62,63}. Cependant, la présence d'autres espèces bactériennes est cruciale dans la régulation de l'inflammation endométriale. Par exemple, *Lactobacillus* interfère avec la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires stimulées par *E. coli* ⁹⁷. *In vivo*, la combinaison de cultures de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* entraînent un contrôle robuste de la réponse inflammatoire endométriale déclenchée par *E. coli* ⁸⁴.

De plus, les espèces de *Lactobacillus* produisent des molécules bioactives telles que l'acide lactique et le peroxyde d'hydrogène, qui inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*) qui sont couramment isolés chez les bovins souffrant de maladies utérines ^{85,98}. L'acide lactique est une substance acide puissante qui peut atteindre les microbes sensibles sans récepteurs spécifiques et augmenter l'acidité du cytosol, conduisant à la mort bactérienne ²⁹. Ainsi, une stratégie d'utilisation de *Lactobacillus* en tant que probiotique peripartum réduirait probablement les pathologies utérines postpartum et améliorerait la fertilité.

3. Microbiote génital et cyclicité

Il est évident que les hormones endocrines contrôlant la cyclicité œstrale des vaches influencent également le microbiote du tractus génital ainsi que sa diversité ⁹⁹. À son tour, le microbiote génital module les profils hormonaux du cycle de reproduction ¹⁰⁰. Pendant la phase folliculaire, de fortes concentrations d'estradiol abaissent le pH des sécrétions endométriales ⁶⁹. Ainsi, l'estradiol modifie la diversité microbienne dans le vagin pendant la phase folliculaire ⁴⁵. Par conséquent, il semble que le microbiote présent pendant une période spécifique influence la cyclicité œstrale et la qualité des ovocytes en développement ^{86,100}. De même, en présence de *Lactobacillus*, le pH vaginal diminue et favorise la fonction de reproduction en supprimant les agents pathogènes infectieux, en améliorant la qualité des ovocytes et en favorisant la fonction lutéale ^{52,86,101}.

Si l'utérus est infecté par des bactéries produisant de la lipopolysaccharide (LPS), telles que *E. coli*, une importante réaction inflammatoire est déclenchée dans le tissu endométrial et la LPS s'accumule dans l'antrum ^{102,103}. De plus, les cellules de granulosa possèdent des récepteurs spécifiques pour LPS, nommés récepteurs de type Toll 4 (Toll like Receptors : TLR-4), qui reconnaissent et répondent à LPS, déclenchant ainsi une réaction inflammatoire dans les cellules folliculaires qui compromet l'activité stéroïdogénique et le développement des ovocytes par l'inhibition de l'activité mitotique ^{104,105}.

Des études cliniques ont confirmé que la contamination utérine sévère est associée à des follicules et des corps jaunes plus petits, entraînant des concentrations plasmatiques périphériques faibles d'estradiol et de progestérone ^{52,53}. Cela pourrait conduire à la sub-fertilité chez les bovins.

4. Microbiome génital et gestion de reproduction

On pense que le microbiome présent dans le tractus génital lors du développement des ovocytes influence également les fonctions normales des spermatozoïdes et les capacités de fécondation, influençant ainsi la conception ⁸⁶.

Comme les bactéries, les spermatozoïdes sont considérés comme des corps étrangers par le système immunitaire du tractus génital et déclenchent donc une réponse inflammatoire lorsqu'ils se fixent aux TLR. Le TLR-2 présent dans les glandes de l'endomètre est important car il élimine les spermatozoïdes inaptes, avec déformations et en excès, pour prévenir la polyspermie, ainsi que pour préparer l'utérus à la nidation imminente ¹⁰⁶.

Après la mise bas, les infections utérines sont connues pour perturber l'intégrité de l'épithélium endométrial et réduire les fonctions des glandes utérines en perturbant la sécrétion de prostaglandines, compromettant ainsi la folliculogénèse et perturbant la fertilité ^{101,107,108}. De nombreuses infections reproductives sont connues pour altérer la fertilité. Si présentes dans l'utérus, les bactéries *E. coli*, l'exotoxine de *T. pyogenes* et le virus de l'herpès bovin 4 (BoHV-4) sont connus pour perturber la sécrétion d'hormones reproductives ^{103,109,110}.

Par exemple, *E. coli* sécrète LPS, qui augmente la production de prostaglandine E2 (PGE2) par les glandes de l'endomètre au lieu de la PGF2 α ¹⁰³. La PGF2 α est une hormone lutéolytique, tandis que la PGE2 est une hormone lutéotrope qui provoque la persistance du corps jaune en l'absence de conception, entraînant une pseudo-gestation ou des kystes lutéaux et une anœstrus. De plus, la progestérone produite par le corps jaune persistant atténue les réponses immunitaires, favorise la prolifération des pathogènes et altère la fertilité ^{111,112}.

La bactérie hautement pathogène *T. pyogenes* produit une toxine agressive appelée pyolysine qui endommage les cellules épithéliales de l'endomètre, entraînant une sécrétion hormonale dysrégulée et une fertilité perturbée ⁹⁶. De plus, une faible abondance de *Corynebacterium*, *Staphylococcus* et *Prevotella* deux jours avant l'insémination sont connus pour améliorer les taux de gestation chez les bovins ⁹².

Bien que les effets bénéfiques de *Lactobacillus* intravaginal ne soient pas encore bien connus, dans l'intestin il produit des phénols qui protègent l'ovocyte contre le stress oxydatif, améliorant ainsi sa compétence et sa fécondation ¹¹³⁻¹¹⁵. De ce fait, l'infusion de *Lactobacillus* en tant que probiotiques améliorerait probablement la fertilité des vaches lorsque des ovocytes de qualité sont ovulés et fécondés ^{113,116}. De plus, *Lactobacillus* supprime la production d'eicosanoïdes, qui sont impliqués dans la réaction inflammatoire et affectent négativement la qualité de l'ovocyte lorsqu'ils sont produits à des concentrations élevées.

Chez la femme, *Lactobacillus delbrueckii* est abondant dans le vagin et est connu pour augmenter la capacitation des spermatozoïdes grâce à la production d'ion bicarbonate (HCO₃⁻) à partir d'eau et de dioxyde de carbone ^{117,118}. Pour améliorer la fertilité chez les bovins, des études supplémentaires sur les avantages de

l'utilisation de tels probiotiques autour du moment de l'accouplement sont nécessaires. Cela peut se traduire par une réduction du nombre d'insémination par conception et une augmentation de la conception au premier service et des taux de gestation plus élevés.

5. Microbiome génital et la gestation

Les technologies telles que l'hybridation in situ en fluorescence et le séquençage du gène de l'ARN ribosomique 16S ont permis l'identification d'espèces bactériennes chez les vaches gestantes^{25,46}. Les bactéries détectées sont souvent associées à des maladies utérines et à des avortements ; cependant, les vaches gestantes étaient cliniquement saines. Ainsi, l'utérus gravide n'est pas stérile, contrairement à ce qui était précédemment pensé¹¹⁹.

De manière intéressante, l'abondance et la diversité des microbiomes diffèrent largement de ce qui est observé dans les endométrites. La charge microbienne et la diversité dans le tractus génital pendant la gestation sont relativement faibles, probablement pour réduire le risque de dysbiose et d'avortement^{17,44}. Les embranchements bactériens trouvés de façon commune dans l'utérus des vaches gestantes, au niveau des placentomes et de l'espace inter-cotylédonaire, sont les *Firmicutes* et *Bacteroidetes*⁴⁶. Une autre étude, utilisant l'hybridation in situ en fluorescence, a détecté une abondance de *F. necrophorum*, *T. pyogenes* et *Porphyromonas levii* dans l'endomètre et les placentomes des vaches²⁵. Il semble que la présence de *Lactobacillus* soit bénéfique pour le succès de la gestation.

Il semble que la présence de *Lactobacillus* soit bénéfique pour le succès de la gestation. Chez la femme, la présence de *Lactobacillus* est associée à une bonne croissance placentaire et à l'angiogenèse¹²⁰. De plus, *Lactobacillus* diminue la production de cytokines pro-inflammatoires, ce qui améliore la tolérance immunitaire du fœtus et facilite le processus de nidation¹²¹. Des affirmations similaires ont été rapportées pour la fécondation *in vitro* où la dominance du microbiome non-*Lactobacillus* sur l'endomètre était associée à une diminution du taux d'implantation¹²⁰. Chez les femmes enceintes, l'absence ou la diminution de la population de *Lactobacillus* dans le vagin réduit l'effet de compétition contre les agents pathogènes, conduisant à une prolifération de microbes plus invasifs qui déclencheront une réaction inflammatoire associée à la libération élevée de cytokines, principalement l'interleukine (IL)-8, et à une naissance prématurée ou une fausse couche⁷⁴.

Dans ce contexte, des cellules épithéliales endométriales bovines ont été cultivées avec quatre souches différentes de *Lactobacillus* et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL 1A, IL6 et IL8 a été monitorée¹²². L'étude a confirmé que certaines souches de *Lactobacillus*, telles que *Lactobacillus ruminis* et *Lactobacillus amylovorus*, augmentaient l'expression génique des cytokines simultanément avec l'augmentation de la charge microbienne. Il est possible que la faible production de cytokines stimulée par *Lactobacillus* ait des effets immunomodulateurs sans trop solliciter le système immunitaire.

Sans *Lactobacillus*, les agents pathogènes prolifèrent, stimulant des réponses pro-inflammatoires excessives et perturbant ainsi la fertilité. D'autre part, une forte abondance de *S. aureus* et de *T. pyogenes* dans le tractus génital bovin était associée à un risque accru d'avortement^{60,61}. Par conséquent, la dysbiose des microbiomes vaginaux et endométriaux entrave la fertilité.

6. Microbiome génital et les pathologies du postpartum

Le postpartum est une période critique du cycle de production des bovins. Une involution utérine perturbée peut entraîner une métrite, une endométrite ou des kystes ovarienne. Pour optimiser la fertilité, l'involution utérine doit être achevée vers 45 jours après le part. Cependant, les bactéries qui contaminent l'utérus lors du vêlage pourraient ralentir ces deux événements¹²³⁻¹²⁵. Ces bactéries proviennent de l'environnement externe ou des organes adjacents de l'animal^{25,46,90}.

La rétention placentaire (RP), la métrite et l'endométrite sont les complications post-partum les plus fréquentes chez les bovins. Chez les vaches ayant une gestation et un vêlage normaux, toutes les femelles ont un microbiome similaire au moment du vêlage, qui devient divergent à sept jours postpartum (JPP), lorsque les *Fusobacteria* et les *Bacteroidetes* prédominent chez les vaches ayant connu une dystocie ou une MFR¹²⁵.

6.1. Rétention placentaire

On pense que le microbiome du tractus génital pendant le postpartum a un effet profond sur les performances de reproduction ultérieures^{93,126}. Les RP est la persistance du tissu placentaire attaché à l'endomètre, représentant un environnement favorable à la croissance de bactéries pathogènes, conduisant à la sub-fertilité¹²⁷. En utilisant des méthodes basées sur la culture et la molécule pour l'identification microbiologique, *E. coli* (68 %) et *S. aureus* (18 %) étaient les plus associés aux RP [74]. De plus, les RP représentent un facteur de risque important pour les pathologies utérines, notamment la métrite et l'endométrite¹²⁷⁻¹²⁹.

6.2. Métrite

La métrite est une inflammation profonde de l'endomètre et du myomètre, qui est associée à une sécrétion vaginales purulentes et/ou fétides, détectée avant le 21^{ème} JPP¹³⁰. Les vaches atteintes de métrite ont un microbiome moins diversifié dominé par *Bacteroides*, *Porphyromonas* et *Fusobacterium*^{8,64}. On pense que l'abondance plus élevée de *Proteobacteria* dans le vagin sept jours avant le vêlage prédit l'apparition de la métrite postpartum, car elle agit en synergie avec les *Fusobacteria*¹²⁵.

E. coli est hautement détecté dans les échantillons utérins en cas de métrite, et la gravité des symptômes est plus importante lorsque la maladie est induite par des souches d'*E. coli* portant le facteur de virulence kpsMTII¹³¹. De plus, une relation symbiotique entre *E. coli*, *T. pyogenes* et *F. necrophorum* facilite la colonisation de l'endomètre et l'évasion du système immunitaire, entraînant une métrite⁶⁶. *T. pyogenes* produit une substance

cytolytique puissante, la pyolysine, qui altère les membranes des cellules épithéliales de l'endomètre, provoquant des lésions tissulaires et une rupture de l'intégrité de la muqueuse ⁹⁶. Alors que les cellules de l'endomètre ne répondent pas aux motifs moléculaires associés aux dommages (Damage associated molecular pattern : DAMP), la combinaison de pathogènes et de DAMP déclenche une réaction inflammatoire par la sécrétion intracellulaire d'IL-1 par les cellules endométriales ⁹⁶.

6.3. Endométrite

L'endométrite est une inflammation superficielle de l'endomètre, qui est associée à des symptômes cliniques moins graves que la métrite et détectée après 21 JPP. elle est considérée comme une inflammation postpartum anormalement prolongée ^{130,132}. L'origine et la pathogenèse de la maladie sont fortement débattues, car il n'est pas confirmé que l'endométrite est déclenchée par des bactéries plutôt qu'une inflammation utérine non contrôlée, mais plusieurs microbes ont été isolés chez des animaux atteints d'endométrite clinique et subclinique ^{62,63,96,126}.

Les analyses métagénomiques des séquences de gènes ARNr 16S du microbiome utérin dans les brosses cytologiques endométriales collectées à différents moments au cours de la première semaine postpartum ont révélé que la métrite et l'endométrite clinique sont associées à une diversité microbienne plus faible, dominée par les *Bacteroidetes*, *Fusobacterium* et *Trueperella*, et une plus faible abondance d'*Escherichia*, *Shigella*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Schlegelella* et *Streptococcus* ^{62,63,96,125}. En outre, l'abondance d'*Anaerococcus*, *Corynebacterium* et *Staphylococcus* augmente le risque d'endométrite subclinique chez les vaches postpartum ^{62,63,96}. Une synergie intéressante entre *T. pyogenes*, *F. necrophorum* et les espèces de *Prevotella* affecterait la gravité des symptômes cliniques de l'endométrite ¹³³.

De manière intéressante, le microbiote vaginal et utérin pendant la période postpartum affecte les performances de reproduction lors des accouplements suivants ⁹³. Par exemple, le séquençage génétique ciblant les régions hypervariables V1 à V3 du gène bactérien 16S rRNA dans les lavages utérins et vaginaux a confirmé que la faible abondance de *Corynebacterium*, *Staphylococcus* et *Prevotella* deux jours avant l'insémination améliore le taux de gestation ⁹². Il est donc important de contrôler le microbiote génital avant l'insémination en utilisant des probiotiques pour améliorer la fertilité.

7. Microbiome génital et comportement animal

Le microbiome de différents organes a été confirmé comme étant efficace pour moduler le comportement de l'animal envers ses congénères. Les études les plus approfondies concernant la production de phéromones sont menées chez les animaux sauvages ¹³⁴⁻¹³⁶.

Cependant, il est possible que les microbiomes des animaux d'élevage, y compris les vaches, présentent des schémas de diversité similaires. On pense que les microbiomes et le comportement animal chez les mammifères sauvages reflètent ceux des ruminants ¹³.

7.1. Social et group identité

Par exemple, le microbiome et les sécrétions volatiles de la glande anale ont été comparés entre les hyènes tachetées et rayées ¹³⁶. Il est intéressant de noter que les sécrétions de la glande odorante varient en fonction du microbiome détecté. De plus, les profils volatils et microbiomes de la glande anale étaient différents entre les hyènes tachetées et rayées et variaient en fonction du statut reproductif de l'animal, ce qui signifie que le microbiome et les sous-produits de molécules volatiles sont hautement spécifiques à l'espèce et aux groupes sociaux. Les mêmes résultats ont été signalés chez les suricates sauvages ⁴⁰.

7.2. Accouplement et comportement sexuel

De même, la triméthylamine est une substance volatile puissante produite par les souris et qui aide à l'accouplement. Il est intéressant de noter que la triméthylamine est très spécifique à l'espèce, car elle attire les souris mais repousse les rats. Des bactéries commensales spécifiques de l'intestin métabolisent la choline alimentaire pour produire de la triméthylamine ¹³⁷.

Il a été confirmé que le microbiome génital de différents animaux, y compris les bovins, est impliqué dans la production de phéromones et la signalisation semio-chimiques entre les femelles et les mâles ³⁹. Cela confirme solidement que tout changement dans le microbiome génital de la femelle affecte son profil de phéromone et le comportement des autres mâles envers elle. Ainsi, le microbiome génital d'un animal ne modifie pas seulement la fonction et le profil volatil de l'organisme, mais affecte également le comportement des autres animaux, y compris l'interaction prédateur-proie et le comportement alimentaire ^{138,139}.

7.3. Comportement alimentaire

Les femelles *Anopheles gambiae*, le moustique africain responsable du paludisme, ciblent leurs hôtes en fonction des signaux chimiques émis et de la charge et de la diversité du microbiome de la peau. Les humains ayant une faible diversité microbienne de la peau sont la cible de choix des moustiques. De plus, la présence de certaines bactéries (*Pseudomonas spp*) repousse les moustiques ¹³⁸.

7.4. Mucus cervico-vaginal et comportement sexuel

Le mucus cervico-vaginal (CVM) des bovins contient une abondance de microbes commensaux et de composés volatils. Pendant l'œstrus, le CVM est très riche en phéromones spécifiques à l'œstrus, parmi lesquelles l'acide oléique, la triméthylamine, l'acide acétique et l'acide propionique sont les plus importants ³⁶.

Il semble que les phéromones soient plus concentrées dans le CVM que dans n'importe quelle autre sécrétion corporelle. Dans une expérience intéressante, l'urine, la salive, les matières fécales et le CVM des femelles en œstrus ont été frottés sur la vulve des femelles en anœstrus ; ces femelles ont été exposées aux mâles et le comportement de Flehmen a été surveillé ³⁹. Les sécrétions d'autres femelles en pré- et met-œstrus ont également été comparées, et l'eau a été utilisée comme témoin négatif.

De manière intéressante, le CVM a entraîné le comportement de Flehmen le plus important et le plus long par rapport à l'urine, la salive et les matières fécales. Aucune réaction de Flehmen n'a été signalée dans les sécrétions de femelles qui n'étaient pas en œstrus. De plus, le CVM des buffles pendant l'œstrus est très riche en *Firmicutes*, qui sont des bactéries anaérobies fermentatives ¹⁹. Les *Firmicutes*, l'embranchement qui comprend l'ordre des *Lactobacillales*, sont abondantes dans le tractus génital des vaches en bonne santé par rapport à celles atteintes des infections utérines ^{8,140}. Ces bactéries sont bien connues pour être impliquées dans la production de phéromones dans les glandes anales de l'hyène ¹³⁶. Toute modification du microbiome génital par des facteurs externes affecterait le profil volatil du CVM.

7.5. Antibiothérapie intravaginale et comportement sexuel

L'administration intravaginale d'antibiotiques chez les chiennes en œstrus rend les femelles moins attirantes pour les mâles, par rapport aux femelles non traitées ⁷⁵. Ces résultats confirment que les phéromones sont fortement produites dans le tractus génital et sont impliquées dans la communication sexuelle entre mâles et femelles. Il est donc important de réduire l'utilisation d'antibiotiques par voie intravaginale, car cela affecte la diversité microbienne du tractus génital et les phéromones produites.

8. Microbiome du tractus génital et probiotiques

La métrite est parfois causée par plusieurs bactéries, principalement *E. coli*, *F. necrophorum* et *T. pyogenes* ^{8,66,130}. En raison des pertes économiques élevées associées aux médicaments, au retrait du lait et à la réduction de la fertilité, les antibiotiques et les antimicrobiens sont souvent utilisés pour contrôler la maladie. Les céphalosporines de troisième génération sont la molécule de choix pour le traitement de la métrite. Cependant, de nombreux pays, tels que les États-Unis, ont interdit leur utilisation dans les animaux destinés à la consommation, pour les réserver uniquement à la médecine humaine ¹⁴¹.

De plus, l'utilisation abusive d'antibiotiques a augmenté le risque de développement de souches résistantes et l'accumulation de résidus d'antibiotiques dans le lait et la viande ^{142,143}. Par conséquent, il est impératif de développer de nouveaux protocoles alternatifs pour une meilleure gestion des maladies de reproduction.

Le terme "probiotiques" représente des microorganismes vivants qui confèrent des avantages pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates¹⁴⁴. L'utilisation de probiotiques est prometteuse dans le traitement des maladies urogénitales chez l'être humain. *Lactobacillus* peut faire partie d'une population

résidente bactérienne dans l'utérus constituant un microbiome protecteur. Ainsi, la microbiome utérine et des espèces bactériennes spécifiques peuvent être liées à des états de santé critiques tels que l'endométrite, l'amélioration des taux de conception ou l'avortement.

8.1. Gestion des infections-urogénitales

Lactobacillus est largement utilisé comme probiotique pour traiter différentes maladies génitales ou générales car ils semblent être tolérés par l'hôte. De plus, les souches de *Lactobacillus* peuvent moduler l'immunité de l'hôte en produisant des molécules bioactives telles que l'acide lactique et le peroxyde d'hydrogène ^{11,88}. Enfin, il semble que ces bactéries soient très bien tolérées par l'organisme hôte et soient rarement impliquées dans des problèmes génitaux.

Par exemple, *Lactobacillus* a été utilisé pour traiter la candidose vulvo-vaginale, une infestation fongique du vagin induite par *Candida albicans* ⁷⁷. Les patients ont reçu des capsules de *Lactobacillus plantarum* par voie intravaginale pendant cinq semaines, ce qui a entraîné une meilleure résolution des symptômes que chez les patientes ayant reçu uniquement du clotrimazole sous forme de crème intravaginale.

De même, *Lactobacillus crispatus* a été utilisé avec succès pour gérer les infections récurrentes des voies urinaires, principalement induites par *E. coli* ⁷⁸. Les patientes ont été traitées avec des capsules intravaginales contenant *Lactobacillus crispatus* pendant 15 jours, ce qui a entraîné une récurrence de la maladie inférieure à celle du groupe témoin.

8.2. Gestion de stress

De plus, la supplémentation orale de souris avec *Lactobacillus rhamnosus* a entraîné une meilleure performance à l'épreuve de natation, une réduction de l'anxiété et une augmentation de l'expression des récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) dans le cerveau ¹⁴⁵. Le GABA est un puissant neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux central qui réduit l'excitabilité neuronale dans tout le système nerveux ¹⁴⁶. La suppression partielle du nerf vague, qui communique entre le tractus gastro-intestinal et le cerveau, a entraîné une suppression des effets induits par la supplémentation en *Lactobacillus*. Cela montre clairement que toutes les informations du système digestif, y compris le microbiome intestinal, sont transmises au cerveau et affectent le comportement de l'animal.

8.3. Gestion des pathologies du postpartum

Il est probable que *Lactobacillus* joue un rôle significatif dans le contrôle des pathologies utérines postpartum lorsqu'il est administré directement par voie intravaginale en tant que probiotique. Les incidences d'inflammation de l'endomètre postpartum ont été réduites lorsque *Lactobacillus sakei* et *Pediococcus acidilactici* ont été introduits par voie intravaginale chez des animaux avant et après le vêlage ^{147,148}. Les

Pediococcus sont également des probiotiques précieux, car ils possèdent des gènes spécifiques codant pour la Pediocine, un peptide bactéricide puissant ^{149,150}.

De même, *Lactobacillus buchneri* a été introduit par voie intravaginale chez des vaches laitières entre 24 et 30 JPP, et l'état de santé de l'utérus et les performances de reproduction ont été mesurés et comparés à un groupe témoin ¹⁴³. Le traitement probiotique a entraîné un intervalle vêlage - 1^{ère} insémination plus courte, réduit le nombre d'insémination pour avoir une gestation, augmente le taux de conception au premier service et réduit l'intervalle vêlage – fécondation, par rapport au groupe placebo traité avec une solution saline isotonique. De plus, l'expression génique des cytokines et des chimiokines pro-inflammatoires était plus faible dans le groupe de probiotique. Ces résultats confirment que la présence de *Lactobacillus* dans le tractus génital protège l'état de santé génital et améliore la fertilité des vaches.

9. Microbiome du tractus génital et prébiotiques

Des conditions favorables encourageant la prolifération d'un microbiome sain peuvent être assurées par des prébiotiques ^{18,119}. Fournir une alimentation riche en énergie autour de la mise bas affecte la diversité du microbiome utérin et l'apparition d'une inflammation utérine.

Par exemple, des vaches Holstein multipares en gestation ont été alimentées avec une ration alimentaire couvrant 80 % des besoins énergétiques, tandis que l'autre groupe a reçu une alimentation qui couvre 100 % des besoins énergétiques, entre 20 jours avant le vêlage et 30 JPP ¹⁸. Les principaux résultats montrent que la restriction énergétique a entraîné une abondance des embranchements de *Bacteroidetes* et *Fusobacteria* et une expression plus élevée de cytokines inflammatoires dans l'endomètre. Selon une étude précédente, pour passer d'un utérus sain après la mise bas à un utérus métritique, il doit y avoir une prolifération excessive de *Bacteroidetes* et *Fusobacteria* et une réduction de l'abondance de *Proteobacteria* et de *Tenericutes* ⁸.

10. A retenir

- Divers organes ont des habitants microbiens distincts.
- Outre l'intestin, le groupe qui a attiré le plus d'attention dans la recherche sur le bétail est celui du tractus génital.
- Les exemples donnés dans ce chapitre indiquent l'implication des bactéries du tractus génital dans l'amélioration de la fertilité.
- Bien que les conséquences de la réduction de la diversité bactérienne dans le microbiome du tractus génital restent inexplorées, l'inoculation intravaginale de bovins à risque d'infection représente une gestion probiotique possible des pathologies génitales du postpartum.

- Il se peut que des probiotiques qui modifient le microbiome endométrial puissent fournir des alternatives aux thérapies existantes pour les pathologies utérines chez les bovins et les autres animaux domestiques.

Chapitre III

**Signification des microbes cervico-vaginaux
dans la reproduction bovine et la
production de phéromones.**

1. Introduction

Il est bien établi que le microbiome influe sur le comportement social et physiologique des animaux, en particulier le comportement sexuel, en fournissant des outils de communication imperceptibles entre les conspécifiques^{135,138}. L'urine, les excréments et les produits des glandes spécialisées génèrent des odeurs qui servent de source d'identité individuelle, d'appartenance à un groupe et de statut sexuel des animaux^{38,135}.

Les mammifères possèdent des glandes odoriférantes spécialisées, telles que les glandes sous-caudales, sébacées et cutanées pour la production d'odeurs ; et plus particulièrement, les bovins utilisent les matières fécales, la salive, l'urine et le mucus vaginal³⁶ comme source de phéromones.

Les communautés microbiennes commensales vivant dans différents organes peuvent influencer les profils odorants individuels des animaux, soit en produisant directement des odorants, soit en métabolisant des composés organiques endogènes existants¹⁵¹. Ce sujet a été largement exploré pour comprendre la vie des animaux sauvages, où les composés volatils trouvés dans la sécrétion odorante de la glande anale des hyènes varient en fonction de la population de communautés microbiennes¹³⁶.

Le rôle de la communication chimique médiée par les bactéries a été bien établi grâce à l'hypothèse de la fermentation, selon laquelle les bactéries fermentent les substrats non odorants en molécules odorantes, utilisées par les félidés pour communiquer avec les conspécifiques. Bien que l'hypothèse de la fermentation soit applicable aux bovidés, elle n'a pas encore été démontrée chez les bovins laitiers tels que les vaches et les buffles.

Comprendre le rôle et la fonction du microbiote chez les bovins aiderait à améliorer les performances de reproduction des bovins dans le monde entier. Il semble que la population microbienne détectée dans les cytobrosses utérines des vaches laitières soit variable et affectée par l'apport alimentaire et le métabolisme énergétique à 14 et 35 jours postpartum (JPP)¹⁸, ce qui aura une incidence sur les produits microbiens et l'odeur de l'animal.

Le rôle de la flore bactérienne dans la production de substances semio-chimiques chez les chiens a été démontré dans plusieurs études⁷⁵. De même, les bactéries dominantes, *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium necrophorum*, et *Fusobacterium nucleatum*, présentes dans le tractus génital postpartum affectent l'activité physiologique du système immunitaire local et augmentent l'incidence de l'endométrite⁹⁶(Carneiro et al., 2016).

Le mucus cervico-vaginal peut être collecté au moment de l'oestrus pour surveiller la santé d'une vache en mesurant plusieurs marqueurs biologiques, tels que les cytokines (Interleukine (IL-6)), les chimiokines (IL-8), les protéines de phase aiguë (Alpha(1)-glycoprotéine acide (AGP)) et les miARN circulants^{152,153}. De plus, la protéine de choc thermique-70 du CVM a été utilisée comme biomarqueur pour la détection de l'oestrus

chez les buffles. Il est important de noter que la diversité microbienne varie dans le mucus en fonction de l'état de santé des bovins ^{154,155}.

L'utilité du CVM est largement étudiée afin de diagnostiquer les maladies utérines telles que la métrite et l'endométrite, cependant l'impact des microbes du CVM sur la détection de l'œstrus et la production de phéromones chez les espèces d'élevage n'est pas largement exploré. Nous pensons que l'utilisation du CVM pour étudier les microbiomes génitaux des bovins peut aider à améliorer la gestion du bétail et les performances de reproduction. Ce chapitre vise à couvrir l'impact du microbiote vaginal sur la santé de l'appareil reproducteur, y compris l'inflammation utérine, la gestation, le cycle œstral et la production de phéromones chez les bovins.

2. Biochimie du mucus cervico-vaginal

Le mucus cervical est principalement composé d'eau (90 à 98%) et de mucines. Les constituants chimiques du mucus cervical comprennent des composés de faible poids moléculaire, des électrolytes, des ions inorganiques, des glucides, des sucres, des acides aminés, des lipides, des immunoglobulines, des enzymes telles que les glucosidases et les métalloprotéinases de matrice, la phosphatase alcaline, la lactate déshydrogénase et l'amylase ^{156,157}.

La fonction principale du mucus dans le tractus reproducteur est d'agir comme une barrière mécanique contre les agents pathogènes envahissants de l'utérus ¹⁵⁸. De plus, le CVM est très riche en cytokines inflammatoires, chimiokines et protéines de phase aiguë qui protègent l'utérus pendant les moments critiques du postpartum ¹⁵³.

3. Diversité de la population microbienne cervico-vaginale

L'écosystème muqueux vaginal est constitué d'un épithélium et d'un mucus colonisé par une microflore qui offre une protection contre les pathogènes exogènes grâce à l'activité des mucines, qui piègent les microbes et facilitent leur efficacité de liaison à leurs anticorps spécifiques ^{85,159}.

La microflore génitale provient de différents sites anatomiques principalement le vagin, le rumen, la peau, l'environnement et les matières fécales. Quelle que soit l'origine du micro-organisme, le vagin reste la principale porte d'entrée du tractus génital ⁴. Cependant, la voie hématogène est une autre voie possible de transmission des microbes à partir de tous les organes vers tractus génital par la circulation sanguine, et dans certains cas, conduisant à des maladies telles que la métrite ⁸.

Les embranchements bactériens les plus fréquemment détectés dans le vagin des bovins laitiers sont les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes* et les *Proteobacteria* ^{44,160} tandis que *Mycosphaerella* était le champignon dominant ⁵⁹. Le microbiome vaginal est très dynamique tout au long du cycle de vie et affecté par l'âge, la cyclicité et le pH vaginal. Des niveaux élevés d'œstrogènes ou de faibles niveaux de progestérone influencent

l'abondance de la communauté bactérienne qui se déplace au cours des différentes phases du cycle œstral chez les bovins ⁵⁴.

L'augmentation des Firmicutes dans le vagin est principalement due à une diminution de la concentration de progestérone ⁹². En revanche, l'abondance relative des protéobactéries est associée à une augmentation de la progestérone. Cette dernière étude suggère que la fluctuation de la population bactérienne vaginale dépend des hormones stéroïdes circulantes.

Normalement, le vagin des bovins est composé d'un mélange dynamique de bactéries aérobies, anaérobies facultatives et anaérobies ⁵⁵, visant à prévenir la prolifération de micro-organismes pathogènes dans des conditions naturelles. Fait intéressant, les espèces de colonisation dominantes semblent varier selon les études. Dans un écosystème aussi vivant et dynamique, de nouvelles souches sont introduites de manière répétitive. Les micro-organismes présents dans le tractus vaginal bovin comprennent *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Enterococci* et *Enterobacteriaceae* ⁵⁴.

Le microbiote vaginal de la vache est dominé par *Aggregatibacter sp.*, *Streptobacillus sp.*, *Phocoenobacter sp.*, *Sediminicola sp.* et *Sporobacter sp.* ¹⁰. Ces espèces bactériennes ont été montrées pour adhérer au CVM et former des biofilms pour stabiliser l'environnement microbien en tant que barrières immunologiques pendant la cyclicité et la gestation ^{9,10}. Les microbes attachés au CVM produisent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des acides organiques pour inhiber l'infection par les principaux agents pathogènes pendant la phase folliculaire du cycle œstral. Il est rapporté que la population de *Lactobacillus sp.*, augmente sous l'influence de l'œstrogène pendant le cycle œstral car ils aident à améliorer la conception en prévenant l'infection utérine et en réduisant la mise bas prématurée ^{74,91,159}. Les bactéries lactiques jouent un rôle protecteur en maintenant un pH stable dans le tractus génital et le CVM, ce qui aide à protéger le vagin contre l'infection.

3.1. Microbes génitaux pendant le cycle œstral

La variation histologique dans le vagin pendant le cycle œstral aurait un impact significatif sur la composition de la population bactérienne. Pendant l'œstrus, la cytologie vaginale est caractérisée par une augmentation du nombre de cellules superficielles, ainsi que de cellules cornées, représentant 50% de la population cellulaire dans le vagin de bovins. D'autres études ont montré la présence de bactéries gram-positives dans les frottis vaginaux pendant l'œstrus chez la souris.

La présence de *Simonsiella spp.*, associée aux cellules épithéliales superficielles est détectée pendant l'œstrus dans le vagin des chiens, lions et léopards. Pendant un cycle normal chez les buffles, des microbes tels que *Escherichia coli* (*E. coli*), *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Micrococcus sp.*, *Citrobacter diversus*, *Corynebacterium bovis*, *Klebsiella sp.*, et *Staphylococcus epidermis* étaient présents dans le tractus génital. Chez les bovins de race viandeuse, les bactéries dominantes dans le tractus génital étaient

principalement *E. coli*, *Aerococcus vaginalis*, *Aerococcus viridans*, *Haemophilus somnus*, *Streptococcus pluranimalium*, *Sphingomonas roseiflava*, *Psychrobacter marincola* et *Lactobacillus spp.*,¹²⁶.

Le microbiome indigène qui colonise la muqueuse vaginale des vaches laitières favorise un tractus génital grâce à une communauté bactérienne dynamique, qui comprend des micro-organismes aérobies et anaérobies, y compris des cocci et bacilles à Gram positif ainsi que des *Enterobactéries*^{55,161}. De manière intéressante, la population microbienne du tractus génital chez les bovins diffère entre la phase lutéale et folliculaire¹²⁶. L'examen bactériologique de prélèvements vaginaux de vaches en œstrus et dioestrus révèle la présence d'*E. coli*, de *Bacillus sp.*, de *staphylocoques* à coagulase négative et de *Streptococcus sp.*. Les *Streptococcus spp.*, dans le vagin sont significativement plus nombreux pendant la phase lutéale que pendant la phase folliculaire et le nombre de *Lactobacillus spp.*, vaginaux est plus élevé pendant la phase folliculaire, par rapport à la phase lutéale¹²⁶.

Bien que la présence de bactéries dans le CVM ne soit pas spécifique à l'inflammation utérine ou vaginale, de nombreuses bactéries ont été détectées à différents endroits du tractus génital^{96,162}. Chez les buffles et les vaches laitières, la présence de différents types de bactéries pendant le postpartum a été enregistrée chez les femelles saines et endométritiques. Les *Proteobacter*, notamment *Psychrobacter sp.* PRwf-1 et *Psychrobacter pulmonis*, étaient prédominantes chez les buffles saines et endométritiques, tandis que les *Tenericutes*, notamment *Ureaplasma diversum* souche T95 et *Ureaplasma diversum* souche A417, étaient significativement associées à l'endométrite et aux problèmes de reproduction chez les buffles. L'abondance bactérienne significative dans le tractus vaginal bovin pour identifier le statut de reproduction, y compris le cycle œstral, la gestation et la métrite, est décrite dans le tableau 2.

3.2. Microbiome génital pendant la gestation

L'existence d'une flore bactérienne aérobique telle que *E. coli*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus coagulase-négatif sp.*, *S. aureus*, *Streptococcus sp.* et *Proteus sp.* a été détectée dans le vagin de vaches saines. De plus, Deng et ses collègues ont signalé l'abondance d'*Histophilus*, *Clostridiaceae* et *Campylobacter* dans le vagin au cours du premier trimestre par rapport à la période avant fécondation¹⁷.

Il semble que la présence de bactéries symbiotiques dans le tractus génital pendant la gestation ait des effets bénéfiques. L'absence de *Lactobacilles* dans le CVM des femmes pendant la grossesse est associée à une sécrétion accrue d'interleukine 8 (IL-8) et à une naissance prématurée ou avortement⁷⁴. Selon cette dernière étude, l'absence ou la diminution de la population de *Lactobacilles* vaginaux augmenterait le pH vaginal conduisant à la croissance de bactéries anaérobies plus invasives qui pourraient déclencher la réaction inflammatoire et la production d'IL-8. De même, *S. aureus* augmente le risque d'avortement car il est souvent isolé du cervix des vaches qui ont avorté, alors qu'il est rarement détecté chez les vaches ayant une gestation et un vêlage normaux⁶⁰.

Tableau 2. Les principales bactéries abondantes dans le tractus génital bovin pendant la reproduction, y compris la gestation, la métrite et le cycle œstral ¹³.

Espèce bovine	Microbiome	Intérêt	Reference
Vache (<i>Bos taurus</i>)	Bactéroïdes utérines	Abondant en cas de non-gestation et métrite	140,163
	Fusobactéries utérines et Bactéroïdes	Relation significative avec le développement de métrite	5,125
	Firmicutes vaginales et utérines	Dominant chez les vaches en lactation	92
	<i>Fusobacterium spp.</i> et <i>Pasteurella multocida</i> Vaginaux	Interfère avec la succession de gestation	45
	Ténéricutes, Firmicutes et Bactéroïdes vaginaux	Dominant dans le cycle œstral	16
Buffle (<i>Bubalus bubalis</i>)	Firmicutes Vaginal	Elevé en cas d'œstrus	19,164

Il semble que la présence de bactéries symbiotiques dans le tractus génital pendant la gestation ait des effets bénéfiques. L'absence de *Lactobacilles* dans le CVM des femmes pendant la grossesse est associée à une sécrétion accrue d'interleukine 8 (IL-8) et à une naissance prématurée ou avortement ⁷⁴. Selon cette dernière étude, l'absence ou la diminution de la population de *Lactobacilles* vaginaux augmenterait le pH vaginal conduisant à la croissance de bactéries anaérobies plus invasives qui pourraient déclencher la réaction inflammatoire et la production d'IL-8. De même, *S. aureus* augmente le risque d'avortement car il est souvent isolé du cervix des vaches qui ont avorté, alors qu'il est rarement détecté chez les vaches ayant une gestation et un vêlage normaux ⁶⁰.

Les bactéries les plus fréquemment isolées du tractus génital des buffles gestantes comprennent *E. coli* (17,7%), *Klebsiella sp.* (5,81%), *Staphylococcus* (12,79%) et *Bacillus sp.* (9,30%). Dans la microflore utérine normale des buffles Nili-Ravi, *E. coli*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus sp.*, *Proteus sp.* et *Micrococcus sp.*, sont principalement présents pendant la gestation ⁷¹. D'autre part, la présence de *Citrobacter sp.* est la plus prévalente chez les buffles avortées ; ces bactéries pourraient donc être utilisées pour prédire la naissance prématurée et l'avortement chez les buffles. La flore bactérienne normale du buffle Murrah comprend des bactéries Gram-positif telles que *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Bacillus sp.*, et des bactéries Gram-négatif comme *E. coli*, *Proteus* et *Klebsiella sp.* ¹⁶⁵.

Selon le stade de gestation, il semble que le microbiome vaginal soit plus diversifié au premier stade de la gestation, comparé au stade tardif, cependant *E. coli* (27,08%) et *Micrococcus sp.* (20%) ont été principalement isolés du vagin tout au long de la gestation. De même, dans une étude impliquant l'utilisation de séquençage de nouvelle génération à haut débit, des réductions de la diversité et de la richesse des espèces

microbiennes se sont produites pendant la grossesse, où *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillales*, *Clostridiales*, *Bacteroidales* et *Actinomycetales* étaient les plus abondants chez la femme ⁷¹.

Pour analyser les perturbations des communautés microbiennes vaginales, il convient de définir un état normal du CVM. Il est important de distinguer entre les microorganismes normaux et pathologiques. De plus, la signature bactérienne doit être définie spécifiquement selon chaque période du cycle œstral, de gestation et du postpartum. Une étude récente a développé une méthode de forêt aléatoire pour détecter l'état de gestation basée sur le microbiome vaginal et fécal ¹⁷. Cependant, des variations significatives de la diversité du microbiome vaginal entre les stades de gestation ont été signalées. Des enquêtes supplémentaires sur les microbiomes vaginaux pendant la gestation et l'évaluation des facteurs affectant la diversité et la dynamique de la communauté vaginale dans des études à long terme sont nécessaires.

4. Rôle des microbes dans la production d'odeurs chez les mammifères

Les signaux basés sur les odeurs sont les composants clés de la communication chez la plupart des animaux. Ils jouent un rôle majeur dans la reproduction animale en représentant des substances sémio-chimiques spécifiques, qui attirent le mâle pour l'accouplement. Actuellement, la production d'odeurs bactériennes chez les animaux reçoit une attention accrue, en vue de la production de signaux de phéromones pour la communication entre congénères ¹³⁸.

Le microbiome influencerait directement les signaux chimiques, impliquant ainsi une variété de comportements sociaux de l'hôte, y compris la signalisation sexuelle. Chez les suricates sauvages, les odeurs sociales varient en fonction de la communauté bactérienne dans les sécrétions anales ¹⁵¹. Le tableau 3 résume certaines bactéries impliquées dans la modification des signaux de l'hôte et le comportement chez les animaux autres que la vache et le buffle.

Le métabolisme microbien chez l'hôte modifie les profils d'acides gras volatils de la glande odoriférante et produit des odeurs spécifiques au sexe qui influencent la communication chimique chez les mammifères ¹³⁶. Les acides aminés aliphatiques sont métabolisés en acides gras volatils à chaîne courte (C2-C5) par les *staphylocoques*. Le microbiome de l'hôte et l'hypothèse de la fermentation pour la reconnaissance chimique suggèrent que les variations du signal de phéromone produit par les glandes odoriférantes des mammifères sont principalement dues à la disparité dans l'abondance de communautés bactériennes spécifiques ^{135,136}.

Tableau 3 : Rôle de microbiome dans la production d'odeur et le comportement de certains animaux

13.

Animal	Symbionte (s)	Fonction / Rôle	Reference
Suricate	Bactéries de la glande anale	Reconnaissance de group, âge et sexe,	38
Petite mangouste indienne	Bactéries de la poche anale	Métabolites comme signature odorantes	138
Souris de maisons	Bactéries des intestins	Reconnaissance d'espèce	166
Rat	Vaginal bacteria	female attraction towards male rats affected by antibiotics	167
Hyène tachetée	Bactéries de la glande anale	i. Reconnaissance de clan, âge, sexe et statut de reproduction ii. Production de substances volatiles spécifiques à l'espèce	136
Blaireau d'Europe	Bactéries de la glande anale	Décision de choix du partenaire	168
Chien	Bactéries vaginal	Modifications du signal sémio-chimique (phéromone) par les antibiotiques	169
Mouton	Bactéries vaginal	Attractivité sexuelle (Taux de phéromones) des brebis en chaleur affectées par les antibiotiques	170

5. Rôle des microbes de la CVM dans le cycle œstral et la production de phéromones

Chez les bovins, la diversité de la population microbienne génitale est associée à l'état de gestation^{17,171} et au cycle œstral¹⁹. De plus, les fluctuations hormonales ont un effet sur la population microbienne de la muqueuse vaginale. L'œstrogène stimule le dépôt de glycogène dans le tissu épithélial vaginal, qui représente une source de nutrition précieuse pour le microbiome vaginal. Les phéromones sexuelles peuvent être produites par des glandes ou des tissus spécialisés ; ces phéromones peuvent également être dérivées d'autres sources, notamment la salive, l'urine et la CVM.

Les sécrétions volatiles émanant du vagin et du prépuce des mammifères sont d'origine microbienne et concentrées dans la CVM. De même, les microbes vaginaux chez les chiens sont responsables de la production d'odeurs vaginales pendant l'œstrus⁷⁵. Les chiennes qui reçoivent des traitements antibiotiques pendant l'œstrus sont moins attirantes pour les mâles que les témoins non traitées. Cela est dû à l'élimination ou à la modification de la composition de la flore bactérienne vaginale qui affectera la qualité du signal sémio-chimique nécessaire pour attirer les mâles et encourager l'accouplement.

Les *Firmicutes* appartenant aux bactéries fermentatives anaérobies sont principalement présents au moment de l'œstrus dans le mucus vaginal des buffles¹⁹. De plus, *Helcococcus*, *Ignavigranum*, *Ezakiella*, *Facklamia*, *Fastidiosipila*, *Peptoniphilus*, *Anaerococcus*, *Atopostipes*, *Peptoniphilus* et *Staphylococcus* sont abondamment présents dans l'œstrus.

Étant donné que les *Firmicutes* des glandes anales de l'hyène sont déjà connues pour la production d'odeurs, les résultats sur l'identification des *Firmicutes* vaginaux peuvent jouer un rôle dans la production de phéromones chez les buffles¹⁹. Cette hypothèse est représentée dans la figure 2. L'importance des phéromones dans la prédiction de l'œstrus chez les buffles a été étudiée précédemment³⁷. De ce fait, les phéromones vaginales sont plus attractives pour les mâles^{36,39}.

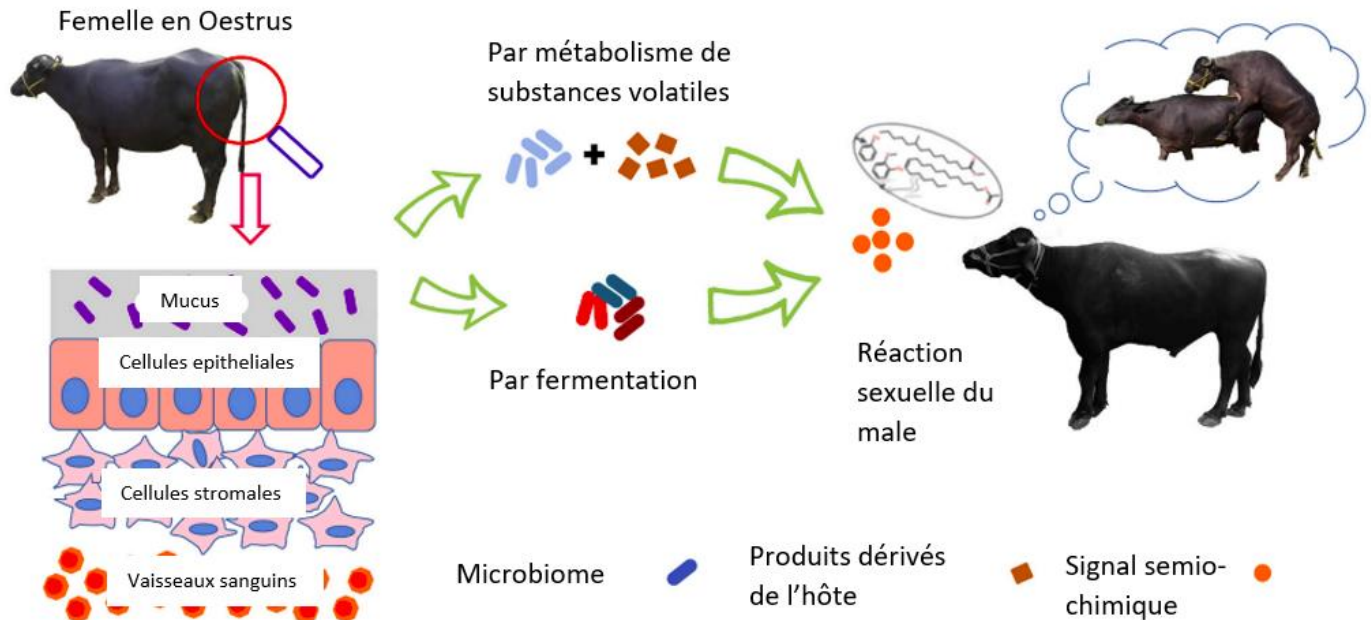


Figure 2. Représentation schématique de l'abondance du microbiote vaginal pendant l'œstrus et la production de phéromones. Les métabolites dérivés de bactéries peuvent être métabolisés davantage dans les cellules hôtes pour produire des molécules qui affectent la physiologie des congénères¹³

Par exemple, le mucus vaginal sécrété pendant l'œstrus par les buffles femelles est distingué par la présence d'acide 9-octadécénoïque (acide oléique), un puissant stimulant chimique³⁶. De même, les phéromones vaginales spécifiques à l'œstrus, la triméthylamine, l'acide acétique et l'acide propionique sont confirmées et évaluées pendant l'œstrus chez les vaches. Il y a eu une augmentation significative du comportement de flehmen des taureaux lorsqu'ils ont été exposés à des phéromones spécifiques de l'œstrus³⁶. Le taureau montre une réponse maximale du comportement de flehmen envers le mucus vaginal par rapport à d'autres liquides biologiques, tels que la salive, le lait et les excréments des vaches en œstrus³⁹. Les études ci-dessus confirment l'importance des phéromones associées au CVM pendant l'œstrus chez la vache et le buffle.

Il est important de noter que la diminution de la quantité de flore vaginale affecte l'attractivité sexuelle chez les brebis en chaleur¹⁷⁰. L'observation comportementale de la femelle hamster indique que la sécrétion vaginale pourrait jouer un rôle dans la communication olfactive et que les changements dans leurs profils qualitatifs et quantitatifs de molécules volatiles affecteraient le comportement sexuel.

Des futures études sur les changements du microbiome vaginal à différentes phases du cycle œstral et son association avec la dynamique folliculaire et le profil stéroïdien seraient d'un intérêt précieux dans la gestion de la reproduction bovine.

6. A retenir

- On suppose que la communauté microbienne de l'appareil génital de l'hôte produit des métabolites volatils pour attirer les partenaires pour la reproduction.
- La microflore influencerait la production de phéromones en métabolisant et en fermentant les produits des sécrétions vaginales.
- Le microbiome vaginal est affecté par les hormones stéroïdiennes et subit des changements au cours du cycle œstral.
- La relation entre les hôtes et leurs microbes est considérée comme importante pour la reproduction et la fertilité des femelles.
- Le CVM contient une diversité bactérienne différente au cours du cycle œstral
- Des genres ou espèces bactériennes spécifiques sont principalement impliqués dans la production de phéromones pendant l'œstrus chez les bovins.
- Ces concepts doivent être évalués rigoureusement pour établir le rôle des communautés microbienne génitale dans la production d'odeurs spécifiquement exprimées pendant l'œstrus et leur impact sur le désir sexuel des taureaux.

Conclusion générale

La compréhension du microbiome génital et des probiotiques chez les vaches est cruciale pour promouvoir leur santé reproductive, leur production laitière et leur bien-être global. Comme nous l'avons vu, le microbiome joue un rôle important dans la santé animale, et l'utilisation de probiotiques a été démontrée pour soutenir un microbiome génital sain, entraînant divers avantages pour les vaches. En favorisant l'utilisation de probiotiques en tant qu'outil de gestion, les éleveurs et les praticiens peuvent optimiser la santé et la productivité des animaux tout en réduisant l'incidence des maladies.

De plus, en éduquant les étudiants vétérinaires sur les interactions complexes entre les microbes et la santé animale, nous pouvons contribuer à la croissance du corpus de recherche et de connaissances sur le microbiome et ses impacts. Ce guide a couvert des sujets importants tels que les facteurs pouvant affecter le microbiome génital, le rôle des probiotiques dans le soutien d'un microbiome sain et les avantages de maintenir un microbiome génital sain chez les vaches. Armés de cette connaissance, les étudiants peuvent devenir mieux équipés pour gérer et promouvoir la santé des animaux domestiques, ce qui mène en fin de compte à une amélioration du bien-être animal et de la productivité.

En résumé, l'étude du microbiome génital et des probiotiques chez les vaches a gagné une attention considérable ces dernières années et continuera d'être un domaine de recherche et de pratique important en médecine vétérinaire. En continuant à enquêter sur les interactions complexes entre les microbes et la santé animale, nous pouvons découvrir de nouvelles stratégies pour promouvoir la santé et le bien-être des animaux, améliorer la productivité et réduire l'incidence des maladies.

Références

- 1 Huttenhower, C. *et al.* Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486**, 207-214, doi:10.1038/nature11234 (2012).
- 2 Jeon, S. J. *et al.* Uterine Microbiota Progression from Calving until Establishment of Metritis in Dairy Cows. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 6324-6332, doi:10.1128/AEM.01753-15 (2015).
- 3 Lacroix, G., Gouyer, V., Gottrand, F. & Desseyn, J. L. The Cervicovaginal Mucus Barrier. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 8266, doi:10.3390/ijms21218266 (2020).
- 4 Sheldon, I. M. & Dobson, H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **82-83**, 295-306, doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.006 (2004).
- 5 Santos, T. M. A., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cow. *J. Vet. Med. Ser. A* **32**, 368-380 (2011).
- 6 Rodrigues, N. F. *et al.* Qualitative analysis of the vaginal microbiota of healthy cattle and cattle with genital-tract disease. *Genet. Mol. Res.* **14**, 6518-6528, doi:10.4238/2015.June.12.4 (2015).
- 7 Miller, E. A., Beasley, D. E., Dunn, R. R. & Archie, E. A. Lactobacilli Dominance and Vaginal pH: Why Is the Human Vaginal Microbiome Unique? *Front. Microbiol.* **7**, 1936, doi:10.3389/fmicb.2016.01936 (2016).
- 8 Galvao, K. N., Bicalho, R. C. & Jeon, S. J. Symposium review: The uterine microbiome associated with the development of uterine disease in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **102**, 11786-11797, doi:10.3168/jds.2019-17106 (2019).
- 9 Tang, G., Kitten, T., Munro, C. L., Wellman, G. C. & Mintz, K. P. EmaA, a potential virulence determinant of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in infective endocarditis. *Infect. Immun.* **76**, 2316-2324, doi:10.1128/IAI.00021-08 (2008).
- 10 Swartz, J. D. *et al.* Characterization of the Vaginal Microbiota of Ewes and Cows Reveals a Unique Microbiota with Low Levels of Lactobacilli and Near-Neutral pH. *Front Vet Sci* **1**, 19, doi:10.3389/fvets.2014.00019 (2014).
- 11 Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C. S. & Cone, R. A. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Res. Microbiol.* **168**, 782-792, doi:10.1016/j.resmic.2017.04.001 (2017).
- 12 Romero, R. *et al.* The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* **2**, 4, doi:10.1186/2049-2618-2-4 (2014).
- 13 Srinivasan, M., Adnane, M. & Archunan, G. Significance of cervico-vaginal microbes in bovine reproduction and pheromone production - A hypothetical review. *Res. Vet. Sci.* **135**, 66-71, doi:10.1016/j.rvsc.2021.01.003 (2021).
- 14 Jeon, S. J. *et al.* Blood as a route of transmission of uterine pathogens from the gut to the uterus in cows. *Microbiome* **5**, 109, doi:10.1186/s40168-017-0328-9 (2017).
- 15 Lin, Y. *et al.* Postpartum Uterine Involution and Embryonic Development Pattern in Chinese Holstein Dairy Cows. *Front Vet Sci* **7**, 604729, doi:10.3389/fvets.2020.604729 (2020).
- 16 Barba, M. *et al.* Vaginal Microbiota Is Stable throughout the Estrous Cycle in Arabian Maress. *Animals : an open access journal from MDPI* **10**, doi:10.3390/ani10112020 (2020).
- 17 Deng, F. *et al.* The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. *J Anim Sci Biotechnol* **10**, 92, doi:10.1186/s40104-019-0401-2 (2019).
- 18 Esposito, G. *et al.* Characterization of metabolic and inflammatory profiles of transition dairy cows fed an energy-restricted diet. *J. Anim. Sci.* **98**, doi:10.1093/jas/skz391 (2020).
- 19 Mahalingam, S., Dharumadurai, D. & Archunan, G. Vaginal microbiome analysis of buffalo (*Bubalus bubalis*) during estrous cycle using high-throughput amplicon sequence of 16S rRNA gene. *Symbiosis* **78**, 97-106, doi:10.1007/s13199-018-00595-y (2019).
- 20 Adnane, M. & Chapwanya, A. A Review of the Diversity of the Genital Tract Microbiome and Implications for Fertility of Cattle. *Animals : an open access journal from MDPI* **12**, 460, doi:10.3390/ani12040460 (2022).
- 21 Dominguez-Bello, M. G. *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 11971-11975, doi:10.1073/pnas.1002601107 (2010).
- 22 Clark, W. A. & Stevenson, W. G. Bacterial Flow of Uterus. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* **13**, 92-93 (1949).
- 23 Parkinson, T. in *veterinary reproduction and obstetrics* (eds D E Noakes, TJ Parkinson, & G C W England) Ch. 15, 391-581 (Elsevier, 2009).
- 24 Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. & Dobson, H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.* **148**, 172-175, doi:10.1136/vr.148.6.172 (2001).

- 25 Karstrup, C. C., Klitgaard, K., Jensen, T. K., Agerholm, J. S. & Pedersen, H. G. Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology* **99**, 41-47, doi:10.1016/j.theriogenology.2017.05.013 (2017).
- 26 Singh, J. *et al.* Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. *Biotechnology journal* **4**, 480-494, doi:10.1002/biot.200800201 (2009).
- 27 Chee, W. J. Y., Chew, S. Y. & Than, L. T. L. Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. *Microb Cell Fact* **19**, 203, doi:10.1186/s12934-020-01464-4 (2020).
- 28 O'Hanlon, D. E., Moench, T. R. & Cone, R. A. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One* **8**, e80074, doi:10.1371/journal.pone.0080074 (2013).
- 29 Alakomi, H. L. *et al.* Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2001-2005, doi:10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000 (2000).
- 30 Nardini, P. *et al.* Lactobacillus crispatus inhibits the infectivity of Chlamydia trachomatis elementary bodies, in vitro study. *Sci. Rep.* **6**, 29024, doi:10.1038/srep29024 (2016).
- 31 Graver, M. A. & Wade, J. J. The role of acidification in the inhibition of Neisseria gonorrhoeae by vaginal lactobacilli during anaerobic growth. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **10**, 8, doi:10.1186/1476-0711-10-8 (2011).
- 32 Valore, E. V., Park, C. H., Igreti, S. L. & Ganz, T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **187**, 561-568, doi:10.1067/mob.2002.125280 (2002).
- 33 Taha, T. E. *et al.* Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. *AIDS* **12**, 1699-1706, doi:10.1097/00002030-199813000-00019 (1998).
- 34 Hoang, T. *et al.* The cervicovaginal mucus barrier to HIV-1 is diminished in bacterial vaginosis. *PLoS Pathog.* **16**, e1008236, doi:10.1371/journal.ppat.1008236 (2020).
- 35 Aldunate, M. *et al.* Vaginal concentrations of lactic acid potentially inactivate HIV. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 2015-2025, doi:10.1093/jac/dkt156 (2013).
- 36 Archunan, G., Rajanarayanan, S. & Karthikeyan, K. in *Neurobiology of Chemical Communication Frontiers in Neuroscience* (ed C. Mucignat-Caretta) (CRC Press/Taylor & Francis© 2014 by Taylor & Francis Group, LLC., 2014).
- 37 Archunan, G. Reproductive enhancement in buffalo: looking at urinary pheromones and hormones. *Iran J Vet Res* **21**, 163-171 (2020).
- 38 Leclaire, S., Nielsen, J. F. & Drea, C. M. Bacterial communities in meerkat anal scent secretions vary with host sex, age, and group membership. *Behav. Ecol.* **25**, 996-1004, doi:10.1093/beheco/aru074 (2014).
- 39 Sankar, R. & Archunan, G. Flehmen response in bull: role of vaginal mucus and other body fluids of bovine with special reference to estrus. *Behav. Processes* **67**, 81-86, doi:10.1016/j.beproc.2004.02.007 (2004).
- 40 Leclaire, S., Jacob, S., Greene, L. K., Dubay, G. R. & Drea, C. M. Social odours covary with bacterial community in the anal secretions of wild meerkats. *Sci. Rep.* **7**, 3240, doi:10.1038/s41598-017-03356-x (2017).
- 41 Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O. & Kasper, D. L. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* **122**, 107-118, doi:10.1016/j.cell.2005.05.007 (2005).
- 42 Wexler, H. M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 593-621, doi:10.1128/CMR.00008-07 (2007).
- 43 Kraipowich, N. R., Morris, D. L., Thompson, G. L. & Mason, G. L. Bovine abortions associated with Bacteroides fragilis fetal infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* **12**, 369-371, doi:10.1177/104063870001200413 (2000).
- 44 Laguardia-Nascimento, M. *et al.* Vaginal Microbiome Characterization of Nellore Cattle Using Metagenomic Analysis. *PLoS One* **10**, e0143294, doi:10.1371/journal.pone.0143294 (2015).
- 45 Messman, R. D., Contreras-Correa, Z. E., Paz, H. A., Perry, G. & Lemley, C. O. Vaginal bacterial community composition and concentrations of estradiol at the time of artificial insemination in Brangus heifers. *J. Anim. Sci.* **98**, doi:10.1093/jas/skaa178 (2020).
- 46 Moore, S. G., Ericsson, A. C., Pooock, S. E., Melendez, P. & Lucy, M. C. Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *J. Dairy Sci.* **100**, 4953-4960, doi:10.3168/jds.2017-12592 (2017).
- 47 Sheldon, I. M., Cronin, J. G. & Bromfield, J. J. Tolerance and Innate Immunity Shape the Development of Postpartum Uterine Disease and the Impact of Endometritis in Dairy Cattle. *Annual review of animal biosciences* **7**, 361-384, doi:10.1146/annurev-animal-020518-115227 (2019).
- 48 van der Burgt, G., Clark, W., Knight, R. & Colles, K. Cattle fertility problems and Histophilus somni. *Vet. Rec.* **160**, 600, doi:10.1136/vr.160.17.600 (2007).

- 49 Nicholas, R, Ayling, R. D. & McAuliffe, L. *Mycoplasma diseases of ruminants: disease, diagnosis and control*. (CAB International, Oxfordshire, 2008).
- 50 Kovachev, S. Defence factors of vaginal lactobacilli. *Crit. Rev. Microbiol.* **44**, 31-39, doi:10.1080/1040841x.2017.1306688 (2018).
- 51 Ulrich, D. *et al.* Regional variation in tissue composition and biomechanical properties of postmenopausal ovine and human vagina. *PLoS One* **9**, e104972, doi:10.1371/journal.pone.0104972 (2014).
- 52 Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N., Pfeiffer, D. U. & Dobson, H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* **123**, 837-845 (2002).
- 53 Williams, E. J. *et al.* The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology* **68**, 549-559, doi:10.1016/j.theriogenology.2007.04.056 (2007).
- 54 Otero, C. *et al.* Lactobacilli and Enterococci Isolated from the Bovine Vagina During the Estrous cycle. *Anaerobe* **5**, 305-307, doi:10.1006/anae.1999.0245 (1999).
- 55 Otero, C. *et al.* Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Lett. Appl. Microbiol.* **31**, 251-254, doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00809.x (2000).
- 56 Sawyer, G. J. Observations on the Bacterial Population of the Os Cervix of the Ewe before and after Embryo Death. *Aust. Vet. J.* **53**, 542-544, doi:10.1111/j.1751-0813.1977.tb07942.x (1977).
- 57 Manes, J. *et al.* Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Rumin. Res.* **94**, 201-204, doi:10.1016/j.smallrumres.2010.07.021 (2010).
- 58 Quadros, D. L. *et al.* Study of vaginal microbiota of Holstein cows submitted to an estrus synchronization protocol with the use of intravaginal progesterone device. *Res. Vet. Sci.* **131**, 1-6, doi:10.1016/j.rvsc.2020.03.027 (2020).
- 59 Giannattasio-Ferraz, S. *et al.* A common vaginal microbiota composition among breeds of *Bos taurus indicus* (Gyr and Nellore). *Braz. J. Microbiol.* **50**, 1115-1124, doi:10.1007/s42770-019-00120-3 (2019).
- 60 Galvão, K. in *Anim Reprod* Vol. 9 290-296 (2012).
- 61 Anderson, M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology* **68**, 474-486, doi:10.1016/j.theriogenology.2007.04.001 (2007).
- 62 Pascottini, O. B. *et al.* Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Sci. Rep.* **10**, 12353, doi:10.1038/s41598-020-69317-z (2020).
- 63 Miranda-CasoLuengo, R. *et al.* Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endometritis. *PLoS One* **14**, e0200974, doi:10.1371/journal.pone.0200974 (2019).
- 64 Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N., Nash, D. M. & Herath, S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet. J.* **176**, 115-121, doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.031 (2008).
- 65 Cunha, F. *et al.* Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows. *Theriogenology* **114**, 25-33, doi:10.1016/j.theriogenology.2018.03.016 (2018).
- 66 Bicalho, M. L., Machado, V. S., Oikonomou, G., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. *Vet. Microbiol.* **157**, 125-131, doi:10.1016/j.vetmic.2011.11.034 (2012).
- 67 Shpigel, N. Y. *et al.* Characterization and identification of microbial communities in bovine necrotic vulvovaginitis. *Vet. J.* **219**, 34-39, doi:10.1016/j.tvjl.2016.12.002 (2017).
- 68 Gorodeski, G. I., Hopfer, U., Liu, C. C. & Margles, E. Estrogen acidifies vaginal pH by up-regulation of proton secretion via the apical membrane of vaginal-ectocervical epithelial cells. *Endocrinology* **146**, 816-824, doi:10.1210/en.2004-1153 (2005).
- 69 Perry, G. A. & Perry, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* **34**, 333-338, doi:10.1016/j.domaniend.2007.09.003 (2008).
- 70 Gajer, P. *et al.* Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci. Transl. Med.* **4**, 132ra152, doi:10.1126/scitranslmed.3003605 (2012).
- 71 Aagaard, K. *et al.* A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One* **7**, e36466, doi:10.1371/journal.pone.0036466 (2012).
- 72 Brotman, R. M. *et al.* Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. *Menopause* **21**, 450-458, doi:10.1097/GME.0b013e3182a4690b (2014).
- 73 Smith, S. B. & Ravel, J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J. Physiol.* **595**, 451-463, doi:10.1113/JP271694 (2017).

- 74 Sakai, M. *et al.* Relationship between cervical mucus interleukin-8 concentrations and vaginal bacteria in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* **52**, 106-112, doi:10.1111/j.1600-0897.2004.00203.x (2004).
- 75 Dzieciół, M. *et al.* The influence of antibiotic treatment of bitches in oestrus on their attractiveness to males during mating. *Polish Journal of Veterinary Sciences DOI - 10.2478/pjvs-2013-0071* (2013).
- 76 LeBlanc, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet. J.* **176**, 102-114, doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.019 (2008).
- 77 De Seta, F. *et al.* Lactobacillus plantarum P17630 for preventing Candida vaginitis recurrence: a retrospective comparative study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **182**, 136-139, doi:10.1016/j.ejogrb.2014.09.018 (2014).
- 78 Stapleton, A. E. *et al.* Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a Lactobacillus crispatus probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection. *Clin. Infect. Dis.* **52**, 1212-1217, doi:10.1093/cid/cir183 (2011).
- 79 Genis, S. *et al.* Pre-calving Intravaginal Administration of Lactic Acid Bacteria Reduces Metritis Prevalence and Regulates Blood Neutrophil Gene Expression After Calving in Dairy Cattle. *Front Vet Sci* **5**, 135, doi:10.3389/fvets.2018.00135 (2018).
- 80 Genis, S., Bach, A. & Aris, A. Effects of intravaginal lactic acid bacteria on bovine endometrium: Implications in uterine health. *Vet. Microbiol.* **204**, 174-179, doi:10.1016/j.vetmic.2017.04.025 (2017).
- 81 Abbas, A. K., Lichtman, A. H. & Pillai, S. *Cellular and molecular immunology.* (Elsevier/Saunders, 2012).
- 82 Sheldon, I. M. The postpartum uterus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **20**, 569-591, doi:10.1016/j.cvfa.2004.06.008 (2004).
- 83 Sengupta, R. *et al.* The role of cell surface architecture of lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators Inflamm.* **2013**, 237921, doi:10.1155/2013/237921 (2013).
- 84 Genis, S., Sanchez-Chardi, A., Bach, A., Fabregas, F. & Aris, A. A combination of lactic acid bacteria regulates Escherichia coli infection and inflammation of the bovine endometrium. *J. Dairy Sci.* **100**, 479-492, doi:10.3168/jds.2016-11671 (2017).
- 85 Otero, M. C. & Nader-Macias, M. E. Inhibition of Staphylococcus aureus by H₂O₂-producing Lactobacillus gasseri isolated from the vaginal tract of cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **96**, 35-46, doi:10.1016/j.anireprosci.2005.11.004 (2006).
- 86 Owens, C. E., Daniels, K. M., Ealy, A. D., Knowlton, K. F. & Cockrum, R. R. Graduate Student Literature Review: Potential mechanisms of interaction between bacteria and the reproductive tract of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **103**, 10951-10960, doi:10.3168/jds.2019-18050 (2020).
- 87 Punzon-Jimenez, P. & Labarta, E. The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: a review. *J. Assist. Reprod. Genet.* **38**, 2519-2541, doi:10.1007/s10815-021-02247-5 (2021).
- 88 Martin, R. & Suarez, J. E. Biosynthesis and degradation of H₂O₂ by vaginal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 400-405, doi:10.1128/AEM.01631-09 (2010).
- 89 Schuenemann, G. M., Bas, S., Gordon, E. & Workman, J. D. Dairy calving management: description and assessment of a training program for dairy personnel. *J. Dairy Sci.* **96**, 2671-2680, doi:10.3168/jds.2012-5976 (2013).
- 90 Ong, C. T. *et al.* Interrogating the bovine reproductive tract metagenomes using culture-independent approaches: a systematic review. *Animal microbiome* **3**, 41, doi:10.1186/s42523-021-00106-3 (2021).
- 91 Rodríguez, C. *et al.* Lactobacilli isolated from vaginal vault of dairy and meat cows during progesteronic stage of estrous cycle. *Anaerobe* **17**, 15-18, doi:<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.12.001> (2011).
- 92 Ault, T. B. *et al.* Bacterial taxonomic composition of the postpartum cow uterus and vagina prior to artificial insemination1. *J. Anim. Sci.* **97**, 4305-4313, doi:10.1093/jas/skz212 (2019).
- 93 Ault, T. B. *et al.* Uterine and vaginal bacterial community diversity prior to artificial insemination between pregnant and nonpregnant postpartum cows1. *J. Anim. Sci.* **97**, 4298-4304, doi:10.1093/jas/skz210 (2019).
- 94 Vitale, S. G. *et al.* The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, doi:10.3390/ijms23010180 (2021).
- 95 Agarwal, K. & Lewis, A. L. Vaginal sialoglycan foraging by Gardnerella vaginalis: mucus barriers as a meal for unwelcome guests? *Glycobiology* **31**, 667-680, doi:10.1093/glycob/cwab024 (2021).
- 96 Carneiro, L. C., Cronin, J. G. & Sheldon, I. M. Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility. *Reprod. Biol.* **16**, 1-7, doi:10.1016/j.repbio.2015.12.002 (2016).
- 97 Liu, M., Wu, Q., Wang, M., Fu, Y. & Wang, J. Lactobacillus rhamnosus GR-1 Limits Escherichia coli-Induced Inflammatory Responses via Attenuating MyD88-Dependent and MyD88-Independent Pathway Activation in Bovine Endometrial Epithelial Cells. *Inflammation* **39**, 1483-1494, doi:10.1007/s10753-016-0382-7 (2016).

- 98 Otero, M. C., Morelli, L. & Nader-Macias, M. E. F. Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* **43** (2006).
- 99 Wang, J. *et al.* Comparison of vaginal microbial community structure of beef cattle between luteal phase and follicular phase. *Indian Journal of Animal Research* (2018).
- 100 Moore, S. G. *et al.* Concurrent and long-term associations between the endometrial microbiota and endometrial transcriptome in postpartum dairy cows. *BMC Genomics* **20**, 405, doi:10.1186/s12864-019-5797-8 (2019).
- 101 Sheldon, I. M., Price, S. B., Cronin, J., Gilbert, R. O. & Gadsby, J. E. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **44 Suppl 3**, 1-9, doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01465.x (2009).
- 102 Cronin, J. G., Turner, M. L., Goetze, L., Bryant, C. E. & Sheldon, I. M. Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. *Biol. Reprod.* **86**, 51, doi:10.1095/biolreprod.111.092718 (2012).
- 103 Herath, S. *et al.* Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2alpha to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology* **150**, 1912-1920, doi:10.1210/en.2008-1379 (2009).
- 104 Herath, S. *et al.* Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction* **134**, 683-693, doi:10.1530/REP-07-0229 (2007).
- 105 Bromfield, J. J., Santos, J. E., Block, J., Williams, R. S. & Sheldon, I. M. PHYSIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY SYMPOSIUM: Uterine infection: linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. *J. Anim. Sci.* **93**, 2021-2033, doi:10.2527/jas.2014-8496 (2015).
- 106 Akthar, I. *et al.* Sperm enter glands of preovulatory bovine endometrial explants and initiate inflammation. *Reproduction* **159**, 181-192, doi:10.1530/REP-19-0414 (2020).
- 107 Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G. & Schuberth, H. J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.* **81**, 1025-1032, doi:10.1095/biolreprod.109.077370 (2009).
- 108 Sicsic, R. *et al.* Microbial communities and inflammatory response in the endometrium differ between normal and metritic dairy cows at 5-10 days post-partum. *Vet. Res.* **49**, 77, doi:10.1186/s13567-018-0570-6 (2018).
- 109 Donofrio, G. *et al.* Bovine herpesvirus 4 is tropic for bovine endometrial cells and modulates endocrine function. *Reproduction* **134**, 183-197, doi:10.1530/REP-07-0065 (2007).
- 110 Davies, D. *et al.* Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **6**, 53, doi:10.1186/1477-7827-6-53 (2008).
- 111 Schust, D. J., Anderson, D. J. & Hill, J. A. Progesterone-induced immunosuppression is not mediated through the progesterone receptor. *Hum. Reprod.* **11**, 980-985, doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a019335 (1996).
- 112 Watson, E. D., Stokes, C. R., David, J. S. & Bourne, F. J. Effect of ovarian hormones on promotion of bactericidal activity by uterine secretions of ovariectomized mares. *J. Reprod. Fertil.* **79**, 531-537, doi:10.1530/jrf.0.0790531 (1987).
- 113 Guerreiro, T. M. *et al.* A Metabolomic Overview of Follicular Fluid in Cows. *Frontiers in Veterinary Science* **5**, doi:10.3389/fvets.2018.00010 (2018).
- 114 Martins, N., Barros, L. & Ferreira, I. C. F. R. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science & Technology* **48**, 1-12, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.008> (2016).
- 115 Rodriguez, H. *et al.* Food phenolics and lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **132**, 79-90, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.025 (2009).
- 116 Jabbour, H. N., Sales, K. J., Catalano, R. D. & Norman, J. E. Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *REPRODUCTION* **138**, 903-919, doi:10.1530/REP-09-0247 (2009).
- 117 Li, C.-X., Jiang, X.-C., Qiu, Y.-J. & Xu, J.-H. Identification of a new thermostable and alkali-tolerant α -carbonic anhydrase from *Lactobacillus delbrueckii* as a biocatalyst for CO₂ biomineralization. *Bioresources and Bioprocessing* **2**, 44, doi:10.1186/s40643-015-0074-4 (2015).
- 118 Visconti, P. E., Krapf, D., de la Vega-Beltran, J. L., Acevedo, J. J. & Darszon, A. Ion channels, phosphorylation and mammalian sperm capacitation. *Asian journal of andrology* **13**, 395-405, doi:10.1038/aja.2010.69 (2011).
- 119 Fulop, V., Demeter, J. & Cseh, A. Significance and effects of prenatal and postnatal microbiome in the period of early individual development and options for interventional treatment. *Orv. Hetil.* **162**, 731-740, doi:10.1556/650.2021.32082 (2021).
- 120 Moreno, I. *et al.* Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **215**, 684-703, doi:10.1016/j.ajog.2016.09.075 (2016).

- 121 Vacca, P. *et al.* Crosstalk between decidual NK and CD14+ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 11918-11923, doi:10.1073/pnas.1001749107 (2010).
- 122 Gartner, M. A. *et al.* Detection and characterisation of Lactobacillus spp. in the bovine uterus and their influence on bovine endometrial epithelial cells in vitro. *PLoS One* **10**, e0119793, doi:10.1371/journal.pone.0119793 (2015).
- 123 Peng, Y., Wang, Y., Hang, S. & Zhu, W. Microbial diversity in uterus of healthy and metritic postpartum Holstein dairy cows. *Folia Microbiol. (Praha)* **58**, 593-600, doi:10.1007/s12223-013-0238-6 (2013).
- 124 Elkjaer, K. *et al.* Uterine bacterial flora in postpartum Danish Holstein dairy cows determined using DNA-based fingerprinting: correlation to uterine condition and calving management. *Anim. Reprod. Sci.* **138**, 39-48, doi:10.1016/j.anireprosci.2013.01.016 (2013).
- 125 Bicalho, M. L. S. *et al.* Dynamics of the microbiota found in the vaginas of dairy cows during the transition period: Associations with uterine diseases and reproductive outcome. *J. Dairy Sci.* **100**, 3043-3058, doi:10.3168/jds.2016-11623 (2017).
- 126 Wang, M. L. *et al.* Uterine Microbiota of Dairy Cows With Clinical and Subclinical Endometritis. *Front. Microbiol.* **9**, 2691, doi:10.3389/fmicb.2018.02691 (2018).
- 127 Potter, T. J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P. J. & Sheldon, I. M. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology* **74**, 127-134, doi:10.1016/j.theriogenology.2010.01.023 (2010).
- 128 Kim, I. H. & Kang, H. G. Risk factors for postpartum endometritis and the effect of endometritis on reproductive performance in dairy cows in Korea. *J. Reprod. Dev.* **49**, 485-491 (2003).
- 129 Adnane, M., Kaidi, R., Hanzen, C. & England, G. C. W. Risk factors of clinical and subclinical endometritis in cattle: a review. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **41**, 1-11, doi:10.3906/vet-1603-63 (2017).
- 130 Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S. & Gilbert, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* **65**, 1516-1530, doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021 (2006).
- 131 Yamamura, F. *et al.* Relationship between Escherichia coli virulence factors, notably kpsMTII, and symptoms of clinical metritis and endometritis in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* **84**, 420-428, doi:10.1292/jvms.21-0586 (2022).
- 132 LeBlanc, S. J. *et al.* Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **85**, 2223-2236, doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6 (2002).
- 133 Ruder, C. A. *et al.* Uterine infections in the postpartum cow. *Theriogenology* **15**, 573-580, doi:10.1016/0093-691x(81)90060-1 (1981).
- 134 Hofer, H., East, M. L., Sämmang, I. & Dehnhard, M.
- 135 Archie, E. A. & Theis, K. R. Animal behaviour meets microbial ecology. *Anim. Behav.* **82**, 425-436, doi:<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.05.029> (2011).
- 136 Theis, K. R. *et al.* Symbiotic bacteria appear to mediate hyena social odors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 19832-19837, doi:10.1073/pnas.1306477110 (2013).
- 137 al-Waiz, M., Mikov, M., Mitchell, S. C. & Smith, R. L. The exogenous origin of trimethylamine in the mouse. *Metabolism* **41**, 135-136, doi:10.1016/0026-0495(92)90140-6 (1992).
- 138 Ezenwa, V. O., Gerardo, N. M., Inouye, D. W., Medina, M. & Xavier, J. B. Microbiology. Animal behavior and the microbiome. *Science* **338**, 198-199, doi:10.1126/science.1227412 (2012).
- 139 Verhulst, N. O. *et al.* Composition of human skin microbiota affects attractiveness to malaria mosquitoes. *PLoS One* **6**, e28991, doi:10.1371/journal.pone.0028991 (2011).
- 140 Machado, V. S. *et al.* Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomic pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Vet. Microbiol.* **159**, 460-469, doi:10.1016/j.vetmic.2012.04.033 (2012).
- 141 Chenault, J. R. *et al.* Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **224**, 1634-1639, doi:10.2460/javma.2004.224.1634 (2004).
- 142 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.* **102**, 184-192, doi:10.1016/j.jpba.2014.09.005 (2015).
- 143 Oliver, S. P. & Murinda, S. E. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **28**, 165-185, doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.005 (2012).
- 144 Fuller, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378 (1989).

- 145 Bravo, J. A. *et al.* Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 16050-16055, doi:10.1073/pnas.1102999108 (2011).
- 146 Jembrek, M. J. & Vlainic, J. GABA Receptors: Pharmacological Potential and Pitfalls. *Curr. Pharm. Des.* **21**, 4943-4959, doi:10.2174/1381612821666150914121624 (2015).
- 147 Ametaj, B. N. *et al.* 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.* **96**, 365-370, doi:10.1016/j.rvsc.2014.02.007 (2014).
- 148 Deng, Q. *et al.* Intravaginal lactic Acid bacteria modulated local and systemic immune responses and lowered the incidence of uterine infections in periparturient dairy cows. *PLoS One* **10**, e0124167, doi:10.1371/journal.pone.0124167 (2014).
- 149 Mathys, S. *et al.* Detection of the pediocin gene pedA in strains from human faeces by real-time PCR and characterization of *Pediococcus acidilactici* UVA1. *BMC Biotechnol.* **7**, 55, doi:10.1186/1472-6750-7-55 (2007).
- 150 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.* **13**, 19, doi:10.1186/1471-2180-13-19 (2013).
- 151 Leclaire, S., Jacob, S., Greene, L. K., Dubay, G. R. & Drea, C. M. Social odours covary with bacterial community in the anal secretions of wild meerkats. *Sci. Rep.* **7**, 3240, doi:10.1038/s41598-017-03356-x (2017).
- 152 Adnane, M., Meade, K. G. & O'Farrelly, C. Cervico-vaginal mucus (CVM) – an accessible source of immunologically informative biomolecules. *Vet. Res. Commun.* **42**, 255-263, doi:10.1007/s11259-018-9734-0 (2018).
- 153 Adnane, M., Kelly, P., Chapwanya, A., Meade, K. G. & O'Farrelly, C. Improved detection of biomarkers in cervico-vaginal mucus (CVM) from postpartum cattle. *BMC Vet. Res.* **14**, 297, doi:10.1186/s12917-018-1619-5 (2018).
- 154 Knudsen, L. R. *et al.* Revisiting bovine pyometra--new insights into the disease using a culture-independent deep sequencing approach. *Vet. Microbiol.* **175**, 319-324, doi:10.1016/j.vetmic.2014.12.006 (2015).
- 155 Knudsen, L. R. *et al.* An investigation of the microbiota in uterine flush samples and endometrial biopsies from dairy cows during the first 7 weeks postpartum. *Theriogenology* **86**, 642-650, doi:10.1016/j.theriogenology.2016.02.016 (2016).
- 156 Tsiligianni, T. H., Karagiannidis, A., Brikas, P. & Saratsis, P. H. Chemical properties of bovine cervical mucus during normal estrus and estrus induced by progesterone and/or PGF2alpha. *Theriogenology* **56**, 41-50 (2001).
- 157 Tsiligianni, T., Karagiannidis, A., Saratsis, P. & Brikas, P. Enzyme activity in bovine cervical mucus during spontaneous and induced estrus. *Can. J. Vet. Res.* **67**, 189-193 (2003).
- 158 Rutlant, J., Lopez-Bejar, M. & Lopez-Gatius, F. Ultrastructural and rheological properties of bovine vaginal fluid and its relation to sperm motility and fertilization: a review. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **40**, 79-86, doi:10.1111/j.1439-0531.2004.00510.x (2005).
- 159 Otero, M. C., Morelli, L. & Nader-Macias, M. E. Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* **43**, 91-97, doi:10.1111/j.1472-765X.2006.01914.x (2006).
- 160 Nesengani, L. T., Wang, J., Yang, Y., Yang, L. & Lu, W. Unravelling vaginal microbial genetic diversity and abundance between Holstein and Fleckvieh cattle. *RSC Advances* **7**, 56137-56143, doi:10.1039/c7ra10553c (2017).
- 161 Wang, X. Y. *et al.* Effect of iron saturation level of lactoferrin on osteogenic activity in vitro and in vivo. *J. Dairy Sci.* **96**, 33-39, doi:10.3168/jds.2012-5692 (2013).
- 162 Petit, T., Spergser, J., Rosengarten, R. & Aurich, J. Prevalence of potentially pathogenic bacteria as genital pathogens in dairy cattle. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **44**, 88-91, doi:10.1111/j.1439-0531.2007.01002.x (2009).
- 163 Machado, V. S., Bicalho, M. L., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. Short communication: Relationship between natural antibodies and postpartum uterine health in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **97**, 7674-7678, doi:10.3168/jds.2014-8393 (2014).
- 164 Mahesh, P. *et al.* Vaginal Microbiota During Estrous Cycle and Its Plausible Association With Certain Hematological Parameters in *Bubalus Bubalis*. *Indian J. Vet. Sci. Biotech.* **15**, doi:doi:10.21887/ijvsbt.15.4.11. (2020).
- 165 Saini, P., Singh, M. & Kumar, P. Fungal endometritis in bovines. *Open Vet J* **9**, 94-98, doi:10.4314/ovj.v9i1.16 (2019).

- 166 Li, Q. *et al.* Synchronous evolution of an odor biosynthesis pathway and behavioral response. *Curr. Biol.* **23**, 11-20, doi:10.1016/j.cub.2012.10.047 (2013).
- 167 Merkx, J., Slob, A. K. & van der Werff ten Bosch, J. J. Vaginal bacterial flora partially determines sexual attractivity of female rats. *Physiol Behav* **44**, 147-149, doi:10.1016/0031-9384(88)90359-9 (1988).
- 168 Sin, Y. W., Buesching, C. D., Burke, T. & Macdonald, D. W. Molecular characterization of the microbial communities in the subcaudal gland secretion of the European badger (*Meles meles*). *FEMS Microbiol Ecol* **81**, 648-659, doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01396.x (2012).
- 169 Dzięcioł, M. *et al.* The influence of antibiotic treatment of bitches in oestrus on their attractiveness to males during mating. *Polish Journal of Veterinary Sciences* **16**, 509-516, doi:10.2478/pjvs-2013-0071 (2013).
- 170 Ungerfeld, R. & Silva, L. The presence of normal vaginal flora is necessary for normal sexual attractiveness of estrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science* **93**, 245-250, doi:10.1016/j.applanim.2004.11.014 (2005).
- 171 Chen, S. Y., Deng, F., Zhang, M., Jia, X. & Lai, S. J. Characterization of Vaginal Microbiota Associated with Pregnancy Outcomes of Artificial Insemination in Dairy Cows. *J. Microbiol. Biotechnol.* **30**, 804-810, doi:10.4014/jmb.2002.02010 (2020).