

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUZIANE Ichraf

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie appliquée

THÈME

**Impact des antibiotiques sur la population des
lactobacilles vaginaux chez la femme**

JURY

Président :	BAKADA Ahmed	Professeur	C.U. Tissemsilt
Encadreur :	BEHELAGHEM Nadia	MCB	ESA. Mostaganem
Examinatrice :	LATTAB Aicha	MCB	U. Khemis Miliana

Année universitaire 2020-2021

Dédicaces

De tout mon cœur, je dédie ce travail à :

Mon très cher Abi pour m'avoir soutenu moralement jusqu'à ce jour, pour son amour, Et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

A ma très chère mère Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

A mes sœurs et mon frère que j'aime tant Pour leur petit mot et leur soutien

A Nadia une personne qui a une place spéciale dans mon cœur, une grande sœur, une amie Qui a été à mes cotés tous au long de cette année qui a partagé avec moi beaucoup de choses.

*En particulier à mon équipe de laboratoire d'analyse médicale Dr CHAIBEDRAA qui a toujours me soutenir et m'encourager. Ainsi que les techniciens Amine, Karime, Ismail, Fatima, Ghania, Wafa, Bouchra et Imène
A toute la promotion Microbiologie Appliquée que j'aime tant un par un.*

Ichraf

Remerciements

J'exprime tout d'abord mes profonds remerciements à Allah qui m'a donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

J'ai l'honneur et le plaisir de présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon encadreur, Dr. BECHELAGHEM Nadia pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour mon encadrement.

Je remercie par ailleurs vivement les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Pr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali d'avoir accepté de présider ce jury et Dr. LATTAB Aicha d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Dr. CHAIBEDRAA de m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour la confiance et l'aide qu'il m'a accordé, ainsi que toute l'équipe du laboratoire d'analyse médicale Dr. CHAIBEDRAA.

Finalement, je remercie également toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

المخلص

يتم علاج معظم الالتهابات المهبلية بالمضادات الحيوية ، ولكن التكرار والالتهابات المزمنة أمر شائع بسبب التأثير الضار على العصيات اللبنية الأصلية. يجب ألا تقتل أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الالتهابات التناسلية البكتيريا المفيدة (*lactobacilles*) التي تساعد في الحفاظ على صحة المهبل والنظام البيئي كواحدة من بكتيريا البروبيوتيك.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو فحص تأثير المضادات الحيوية على العصيات اللبنية المهبلية وتحديد النوعين *L.reuteri* و *L.salivarius* من أجل تجنب الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية التي لها تأثير ضار عليها.

تم اختبار سبعة وعشرين من العصيات اللبنية المهبلية المعزولة والمحددة في دراسة سابقة من حيث حساسيتها لتسعة مضادات حيوية من فئات مختلفة تستخدم عادة لعلاج الاضطرابات المهبلية. تم تنفيذ طريقة انتشار قرص في أجار MRS .

تشير النتائج إلى أن جميع العصيات اللبنية المهبلية السبعة والعشرون (*L.reuteri* 88.89% و *L.salivarius* 11.11%) لها حساسية متفاوتة تجاه المضادات الحيوية المستخدمة. هم أكثر حساسية للإيميبينيم ، وحساسية معتدلة للكلينداميسين ، و الكلورامفينيكول و الريفامبيسين ، وأقل حساسية للسيبروفلوكساسين والبنسلين والجنتاميسين. ومع ذلك ، فإن جميعها مقاومة للفانكوميسين وحمض الناليديكسيك.

من البيانات التي تم الحصول عليها يمكن استنتاج أن العلاج بالفانكوميسين وحمض الناليديكسيك لا يؤثر على عدد *L.reuteri* و *L.salivarius* في المهبل. ومع ذلك ، فإن العلاج باستخدام الكلينداميسين و الكلورامفينيكول و الريفامبيسين و السيبروفلوكساسين والبنسلين والجنتاميسين قد يؤدي إلى انخفاض هذين النوعين من العصيات اللبنية في المهبل. في الواقع ، يجب تجنب العلاج بالإيميبينيم لما له من تأثير مدمر على جميع عزلات *L.reuteri*.

يجب التأكيد على أن القابلية المتغيرة لهذه البكتيريا الصديقة يجب أن تأخذ بعين الاعتبار عند اختيار أنظمة العلاج المضادة للبكتيريا.

الكلمات الدالة: حساسية المضادات الحيوية ، العصيات اللبنية المهبلية ، *L.reuteri* ، *L.salivarius* الالتهابات المهبلية

Résumé

La plupart des infections vaginales sont traitées par des antibiotiques, mais les récurrences fréquentes et les infections chroniques sont courantes en raison de l'effet néfaste sur les lactobacilles indigènes. Les types d'antibiotiques utilisés pour traiter les infections génitales ne doivent pas tuer les bactéries bénéfiques (lactobacilles) qui aident à préserver la santé vaginale et l'écosystème comme étant l'une des bactéries probiotiques.

L'objectif principal de cette étude était d'examiner l'impact des antibiotiques sur les lactobacilles vaginaux spécifiquement les deux espèces *L.reuteri* et *L.salivarius* afin d'éviter l'utilisation excessive d'antibiotiques qui ont un effet néfaste sur eux.

Vingt-sept lactobacilles vaginaux isolés et identifiés dans une étude précédente ont été testés pour leur sensibilité à neuf antibiotiques de différentes classes couramment utilisés pour traiter les troubles vaginaux. La méthode de diffusion sur disque en gélose MRS a été effectuée.

Les résultats suggèrent que tous les vingt-sept lactobacilles vaginaux (88,89 % *L.reuteri* et 11,11 % *L.salivarius*) ont une sensibilité variable aux antibiotiques utilisés. Ils sont plus sensibles à l'imipénem, modérément sensibles à la clindamycine, au chloramphénicol et à la rifampicine, et moins sensibles à la ciprofloxacine, à la pénicilline et à la gentamicine. En revanche, tous sont résistants à la vancomycine et à l'acide nalidixique.

Les données obtenues permettent de conclure que le traitement par la vancomycine et l'acide nalidixique n'affecte pas le nombre de *L.reuteri* et *L.salivarius* dans le vagin. Cependant, un traitement par clindamycine, chloramphénicol, rifampicine, ciprofloxacine, pénicilline et gentamicine peut favoriser une diminution de ces deux espèces de lactobacilles dans le vagin. En fait, le traitement par l'imipénem doit être évité car il a un effet destructeur sur tous les isolats de *L.reuteri*.

Il convient de souligner que la sensibilité variable de ces bactéries amicales doit être prise en compte lors du choix des schémas de traitement antibactérien.

Mots clés : Sensibilité aux antibiotiques, Lactobacilles vaginaux, *L.reuteri*, *L.salivarius*, Infections vaginales.

Abstract

Most vaginal infections are treated by antibiotics but frequent recurrences and chronic infections are common due to the adverse effect on the indigenous lactobacilli. The types of antibiotics used to treat genital infections must not to kill the beneficial bacteria (lactobacilli) that help in preservation of vaginal health and ecosystem as being one of probiotic bacteria.

The main goal of this study was to review the impact of antibiotics on vaginal lactobacilli specifically the two species *L.reuteri* and *L.salivarius* in order to avoid the overuse of antibiotics which have a detrimental effect on them.

Twenty-seven vaginal lactobacilli isolated and identified in previous study were tested for their susceptibility to nine antibiotics from different class commonly used to treat vaginal disorders. The disc diffusion method in MRS agar was performed.

The results suggest that all of the twenty-seven vaginal lactobacilli (88,89% *L.reuteri* and 11,11% *L.salivarius*) have variable sensitivity to antibiotics used. They are more sensitive to imipenem, moderate sensitivity to clindamycin, chloramphenicol and rifampicin, and less sensitive to ciprofloxacin, penicillin and gentamicin. On the other hand, all are resistant to vancomycin and nalidixic acid.

Obtained data allow to conclude that therapy with vancomycin and nalidixic acid does not affect the number of *L.reuteri* and *L.salivarius* in the vagina. However, treatment with clindamycin, chloramphenicol, rifampicin, ciprofloxacin, penicillin and gentamicin can promote a decrease in these two species of lactobacilli in the vagina. In fact, treatment with imipenem should be avoided as it has a destructive effect on all *L. reuteri* isolates.

It should be emphasized that the varying susceptibility of these friendly bacteria should be taken into account when choosing schemes antibacterial treatment.

Key words: Antibiotic susceptibility, Vaginal lactobacilli, *L.reuteri*, *L.salivarius*, Vaginal infections.

Table des Matières

Table des Matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie bibliographique

Premier chapitre

Les lactobacilles et l'écosystème vaginal

I/ Le tractus génital féminin.....3

I.1/ Le vagin.....3

II/ L'écosystème vaginal.....4

III/ Les lactobacilles vaginaux.....6

Deuxième chapitre

Importance des lactobacilles dans l'écosystème vaginal

I/ Potentiel des molécules tensioactives (MTAs) issues de *Lactobacillus*.....8

I.1/Peptidoglycan (PG).....10

I.2/Acide lipotéichoïque (LTA).....13

I.3/Polysaccharides bactériens.....15

I.4/Biosurfactant (BS).....16

Troisième chapitre

L'effet des antibiotiques prescrits dans les infections gynécologiques sur les lactobacilles vaginaux

I/Introduction.....	18
II/Définition.....	18
III/Classification.....	18
IV/Utilisation des antibiotiques et émergence de la résistance aux antibiotiques.....	21
V/Les infections gynécologiques les plus courantes.....	22
V.1/ La vaginose bactérienne.....	22
V.2/ La vaginite aérobie.....	22
V.3/La vaginite à levure.....	23
VI/ Impact des antibiotiques sur le microbiote vaginal.....	23

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I/L'origine de la population des lactobacilles.....	26
II/Réactivation des lactobacilles.....	26
III/Tests de confirmation.....	26
III.1/Recherche de la catalase.....	26
III.2/Coloration de Gram.....	27
IV/Re-Conservation des isolats.....	27

V/Étude de la sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques.....	27
V.1/Préparation de l'inoculum.....	28
V.2/L'Ensemencement.....	28

Résultats et discussion

I/Réactivation des lactobacilles	29
II/ Tests de confirmation.....	29
II.1/Coloration de Gram.....	29
II.2/Recherche de la catalase.....	30
III/Étude de la sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques.....	30
Conclusion.....	36
Références bibliographiques.....	38

Annexe

Liste des tableaux

Tableau 1 : les micro-organismes prédominants tout au long du cycle de vie des femmes5

.

Tableau 2 :Antibiotiques, leurs classes, modes d'action et mécanismes de résistance.....20

Tableau 3 : Les antibiotiques testés sur les lactobacilles.....28

Tableau 4 : les zones d'inhibition (en mm) des 9 ATB testés sur les 27 isolats.....31

Liste des figures

Figure 1: Coupe frontale de l'appareil génital.....	3
Figure 2 : l'épithélium vaginal.....	4
Figure 3: Mode d'action des espèces vaginales de <i>Lactobacillus</i>	8
Figure 4: L'appareil génital féminin est constamment exposé aux microbes.....	10
Figure 5 : Représentation schématique de la structure du peptidoglycane.....	11
Figure 6: Vue d'artiste de la paroi cellulaire d'une bactérie Gram-positif.....	12
Figure 7: Représentation schématique de la structure de l'acide téichoïque de la paroi (WTA) et de l'acide lipotéichoïque (LTA).....	14
Figure 8 : Mécanismes d'action des antibiotiques.....	19
Figure 9 : Les sites cibles et les mécanismes de défense utilisés par les bactéries pour prévenir les effets néfastes causés par les antibiotiques.....	21
Figure10: l'aspect macroscopique des colonies des lactobacilles sur milieu MRSA.....	29
Figure 11 : observation des cellules de <i>Lactobacillus</i> sous microscope.....	30
Figure 12: Effet des antibiotiques testés sur <i>L.reuteri</i> (L3) par méthode de diffusion sur milieu MRS.....	32
Figure 13: Effet des antibiotiques testés sur <i>L.reuteri</i> (L22) par méthode de diffusion sur milieu MRS.....	32
Figure 14: Effet des antibiotiques testés sur <i>L.salivarius</i> (L25) par méthode de diffusion sur milieu MRS.....	33
Figure 15: Effet des antibiotiques testés sur <i>L.salivarius</i> (L31) par méthode de diffusion sur milieu MRS.....	33

Liste des abréviations

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

µg : microgramme

Ala : Alanine

Asn: Asparagine

Asp: Aspartate

ATB: Antibiotique

g : gramme

Glu : Glutamate

h: heure

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

kg : kilo gramme

L : Litre

Lys:Lysine

mDAP : meso- diaminopimelic acid

ml :millilitre

MRS: Man-Rogosa et Sharpe

MRSA: MRS agar

MRSB: MRS bouillon

nm: nanomètre

pH :Potentiel d'Hydrogène

PLP : Protéines de liaison des pénicillines

spp :sous-espèce

Th-1 : Lymphocytes T sous type 1

UFC: Unité formant colonie

UI :Unité Internationale

UV :Ultraviolet

VB : Vaginose bactérienne

Introduction

L'appareil génital féminin est l'un des sites majeurs occupés par le microbiote, communément dominé par les bacilles de Doderleïn (espèce *Lactobacillus*) (**Redondo-Lopez et al., 1990**). La présence de lactobacilles est un signe important d'un vagin sain qui inhibe la croissance de micro-organismes pathogène. En général, les lactobacilles vaginaux offrent une protection contre différentes maladies, y compris, la vaginose bactérienne, la candidose vaginale et les infections urinaires récurrentes. Cette protection est assurée par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, des bactériocines et des biosurfactants (**Dasari et al., 2014**). Les lactobacilles protègent aussi l'écosystème vaginal par l'exclusion compétitive, la co-agrégation, l'immunomodulation et la signalisation qui peuvent conduire à une régulation négative de la production de toxines dans les agents pathogènes (**Kaewsrichan et al., 2006 ; Reid et al., 2011 ; Borges et al., 2014**).

Les lactobacilles vaginaux sont très sensibles aux antibiotiques, en particulier aux macrolides et aux tétracyclines souvent prescrits dans les infections gynécologiques, mais aussi à la plupart des grandes familles de molécules. Ceci entraîne directement le déséquilibre de l'écosystème vaginal dès la mise en œuvre de la moindre antibiothérapie. Seuls le métronidazole et les quinolones semblent peu actifs sur cette flore de Doderleïn (**Bannatyne et Smith, 1998 ; Hillier et al., 2000**). Par leur action bactéricide, les antibiotiques administrés par voie locale (vaginale) ou systémique entraînent une diminution, voire une éradication des lactobacilles vaginaux. Cette situation est favorable à la prolifération de micro-organismes opportunistes comme le *Candida*. Le risque de survenue d'une candidose vulvo-vaginale après une antibiothérapie est d'autant plus important que l'antibiothérapie est à large spectre et que la durée du traitement est longue. On estime que le pourcentage des mycoses vaginales qui font suite à une prise d'un antibiotique est autour de 28% à 33% (**Pirota et Garland, 2006 ; Sobel, 2007 ; Amouri et al., 2010**).

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer l'impact des antibiotiques sur la population des lactobacilles vaginaux chez la femme. Et comme il y a peu d'études sur l'effet des antibiotiques sur les deux espèces vaginales (*L.reuteri* et *L.salivarius*) dominés dans notre région à l'ouest d'Algérie, nous avons trouvé intéressant de cibler les antibiotiques affectant ces deux dernières espèces.

Ce travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres. Le **premier chapitre** c'est une généralité sur les lactobacilles vaginaux et leur écosystème. Le **deuxième** chapitre s'intéresse à l'importance des lactobacilles dans l'écosystème vaginal. Enfin le **troisième chapitre** montre l'effet des antibiotiques couramment utilisés dans les infections gynécologiques sur ces bactéries amicales.

La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, le chapitre de **matériel et méthodes** et le chapitre des **résultats et discussion**. Enfin le manuscrit est achevé par une **conclusion** générale qui souligne les résultats marquant de ce travail et présente les perspectives et les nouvelles orientations que devraient amener les travaux ultérieurs.

Partie

Bibliographique

Premier chapitre

Les lactobacilles et l'écosystème vaginal

I/ Le tractus génital féminin

Le tractus génital féminin est composé d'une séquence de cavités. Les voies génitales externes (vulve) mènent dans le vagin qui se connecte successivement à l'endocol, l'utérus puis aux trompes de Fallope (ou utérines) (**figure 1**). L'exposition de l'appareil génital féminin à l'environnement externe comporte le risque, causé par des infections, de compromettre les fonctions reproductives (**Witkin *et al.*, 2007**). Parmi les mécanismes de défense opérationnels pour prévenir les infections dans cette zone, l'un des plus importants est sans aucun doute la composition de la microflore qui colonise le vagin (**Witkin *et al.*, 2007**).

I.1/ Le vagin

Le vagin est un conduit qui s'étend de la vulve au col de l'utérus (**figure 1**). Bien qu'il s'agisse d'un organe interne, le vagin n'est pas stérile en raison de sa connexion avec l'extérieur (**Haya *et al.*, 2014**). C'est une cavité septique reliant une zone stérile, l'utérus, à une zone septique, la peau avec l'anus en conséquence une flore microbienne normale d'origines intestinale et cutanée peut donc s'y installer (**Berrebi et Ayoubi, 1999 ; Bergogne-Bérézin, 2007**).

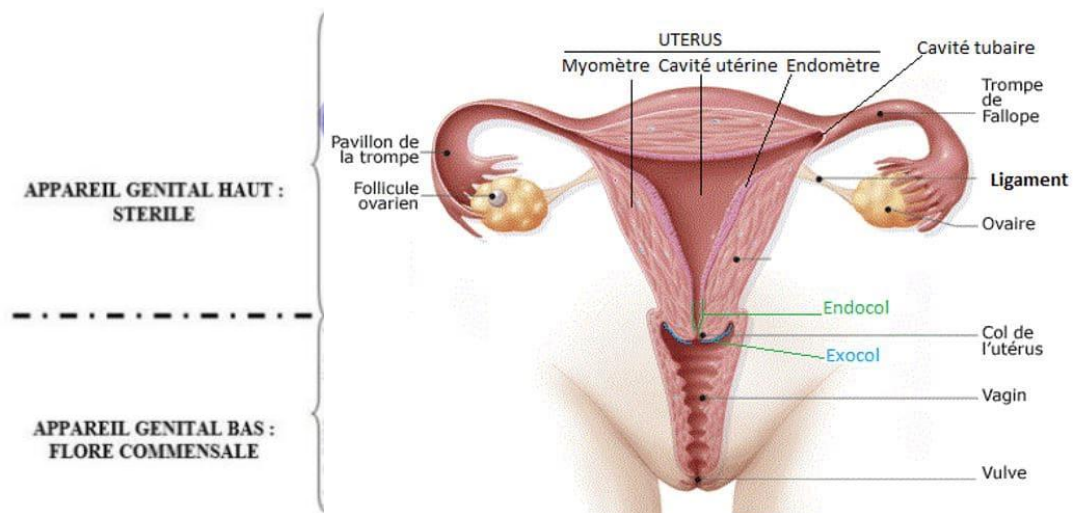


Figure 1: Coupe frontale de l'appareil génital féminin
<https://microbiologiemedicale.fr/appareil-genital-feminin/>

Le vagin est constitué d'un épithélium stratifié en multicouches avec présence de glycogène dans la couche superficielle (**figure 2**). La prolifération de cet épithélium et son rétrécissement évoluent avec le cycle menstruel. Dans la lumière vaginale se forme un fluide composé de sels, de protéines, de glucides dont le glycogène (4 à 15g/l), d'acide lactique (2 à 5g/l) et de l'urée. Le dépôt de glycogène dans les couches cellulaires est stimulé par des quantités élevées d'oestrogènes durant la période post-pubertaire et pré-ménopausée (**Marion, 2018**)

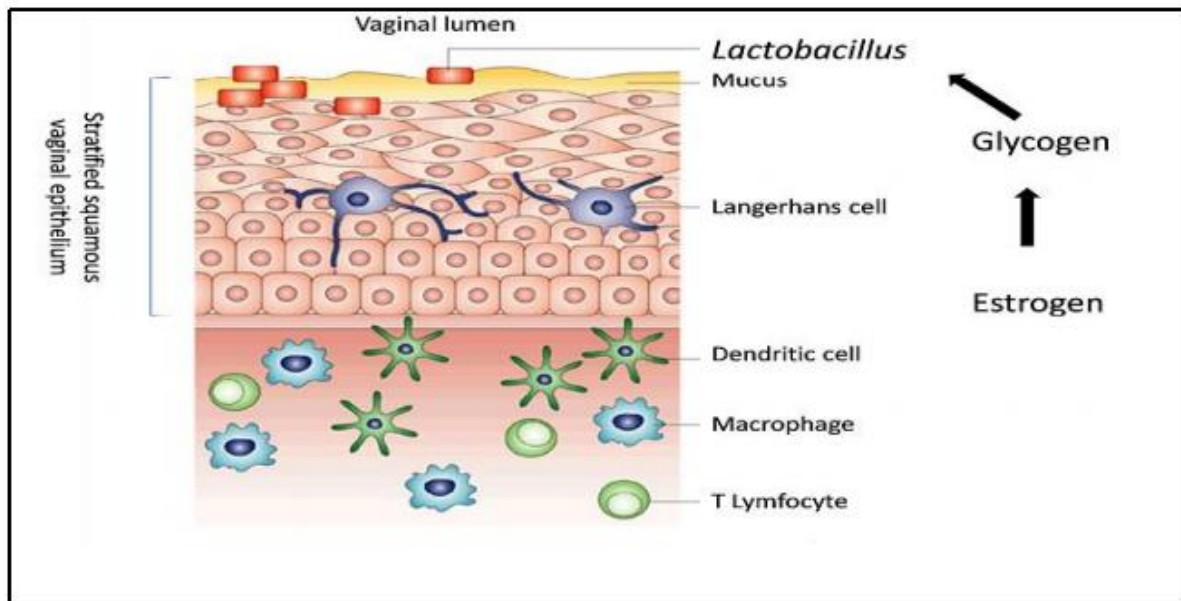


Figure 2 : l'épithélium vaginal (Stone, 2002).

II/ L'écosystème vaginal

À la naissance, le vagin de la fillette est stérile. En raison de la teneur élevée en glycogène des cellules épithéliales vaginales néonatales, avec le glycogène dérivé de la mère à la naissance, le vagin du nourrisson est colonisé par des lactobacilles migrant de la mère. Cela est conforme au fait généralement reconnu que la flore bactérienne normale chez l'homme provient de la mère (**Forsum et al., 2005**). La microflore vaginale de la fillette devient entrecoupée de contributions de staphylocoques à coagulase négative, de streptocoques, de *Escherichia coli* et d'autres bactéries intestinales. Il reste cependant de petites quantités de lactobacilles et l'œstrogène produit à la ménarche entraînera un épaissement de la muqueuse vaginale, une augmentation de la production de glycogène (**Wilks et Tabaqchali, 1987**) et peut-être l'œstrogénisation et l'expression de nouveaux récepteurs, une condition préalable à la propagation des lactobacilles, la microflore vaginale dominante de la femme adulte (**Redondo-Lopez et al., 1990**). Les bactéries isolées des

sécrétions vaginales des femmes en âge de procréer se situent autour de 10^7 ou 10^8 UFC / g de fluide (Redondo-Lopez *et al.*, 1990). Cette composition de microflore se poursuit jusqu'à la ménopause, quand elle est remplacée par une flore mixte semblable à celle de la femelle infantile, mais avec une partie considérable d'espèces de *Mycoplasma* et de petites quantités de bactéries anaérobies (y compris *Gardnerella vaginalis*). Une hormonothérapie substitutive, lorsqu'elle est utilisée, fera en sorte que les lactobacilles continueront d'être la microflore dominante (Forsum *et al.*, 2005). Bien que chez les femmes en bonne santé, le microbiote vaginal possède une diversité relativement faible, il convient de considérer que ses schémas peuvent subir des modifications tout au long du cycle de vie de la femme et du cycle menstruel (Chen *et al.*, 2017) (tableau 1).

Tableau 1 : les micro-organismes prédominants tout au long du cycle de vie des femmes

Cycle de vie de la femme	Microorganismes prédominants	Références
Enfance	Bactéries anaérobies à Gram négatif, telles que <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Veillonella</i> . Bactéries anaérobies à Gram positif, telles que <i>Actinomyces</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> et <i>Propionibacterium</i> . Bactéries aérobies, telles que <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus viridans</i> et <i>Enterococcus faecalis</i>	(Dei <i>et al.</i> , 2010 ; Ran et Mladenovi, 2012)
Prépubère	Faible abondance de <i>Lactobacillus</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> et <i>Prevotellabivia</i>	(Ran et Mladenovi, 2012)
Puberté	Espèces prédominantes sont <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus iners</i> et <i>Lactobacillus jensenii</i>	(Yamamoto <i>et al.</i> , 2009)
Adulte	Semblable à la puberté, <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus iners</i> et <i>Lactobacillus jensenii</i>	(Yamamoto <i>et al.</i> , 2009)
Ménopause	Espèces prédominantes sont <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus iners</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Prevotella</i> et une moindre abondance de <i>Candida</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> et <i>Gemella</i>	(Al- Baghdadi et Ewies, 2009)

Un écosystème vaginal sain se caractérise par un épithélium vaginal intact et une microflore dominée par les lactobacilles. *Lactobacillus* spp, représentent plus de 95% de toutes les bactéries présentes (**Spiegel et al., 1980 ; Eschenbach, 1993**). La composition de l'écosystème vaginal n'est pas statique mais change au cours du temps et en réponse aux influences endogènes et exogènes (**Priestley et al., 1997; Schwebke et al., 1999; Eschenbach et al., 2000; Eschenbach et al., 2001**). Les variables comprennent le stade du cycle menstruel, la grossesse, l'utilisation d'agents contraceptifs, la fréquence des rapports sexuels, les douches vaginales et l'utilisation d'antibiotiques ou d'autres médicaments ayant des activités immunitaires ou endocriniennes. L'exposition à un milieu modifié entraînera une fluctuation de l'environnement local et augmentera ou diminuera l'avantage sélectif de microbes vaginaux spécifiques. Par exemple, la perte de lactobacilles dans le vagin a été associée à l'utilisation d'antibiotiques pour les maladies non vaginales (**Eschenbach et al., 2000**).

III/ Les lactobacilles vaginaux

Les lactobacilles sont des micro-organismes nécessitant une croissance dans des milieux riches. Sur milieu MRS, la plupart d'entre eux présentaient de petites colonies rondes et de couleur blanche à crème (**Dasari et al., 2014**). Les cellules des lactobacilles sont à coloration de Gram positive, non sporulées, peuvent se présenter sous forme de bâtonnets ou de coccobacilles (**Dasari et al., 2014**). Ils sont strictement fermentaires, aérotolérants ou anaérobies. Ils sont catalase négative, même si une activité pseudocatalase peut être présente chez certaines espèces (**Hammes et Vlog, 1995 ; Felis et Dellaglio, 2007**).

Les lactobacilles dans l'écosystème vaginal jouent un rôle protecteur en limitant la croissance, la prolifération et la colonisation des agents pathogènes. Ces microbes bénéfiques contribuent au contrôle des infections en produisant des composés antimicrobiens qui incluent des acides organiques (**O'Hanlon et al., 2013; Witkin et al., 2013**), du peroxyde d'hydrogène (**Eschenbach et al., 1989**), des bactériocines et des biosurfactants (**Kovachev, 2018**). La présence de souches de lactobacilles productrices de H₂O₂ pendant la grossesse a été associée à une réduction du risque de la vaginose bactérienne (VB) et des conséquences gynécologiques indésirables (**Wilks et al., 2004**). En outre, les lactobacilles peuvent entrer en compétition avec des agents pathogènes pour l'adhérence aux cellules épithéliales vaginales et empêcher leur colonisation (**Boris et al., 1998**).

Le mécanisme d'exclusion compétitive pourrait être dû à la coagrégation des lactobacilles avec les microorganismes pathogènes entravant ainsi l'adhérence et la colonisation d'agents pathogènes sur l'épithélium vaginal (**Younes et al., 2012**). Un autre mécanisme d'exclusion pourrait être dû à l'autoagrégation où *Lactobacillus* peut former des agrégats multicellulaires avec des bactéries de la même espèce et leur adhérence aux cellules épithéliales et aux surfaces de mucus crée une barrière pour les pathogènes (**Zeng et al., 2019**). Ainsi, *Lactobacillus* joue un rôle protecteur dans le microenvironnement vaginal, et la réduction de leur abondance et de leur diversité conduit à une dysbiose. Cependant, il n'est pas certain que les propriétés probiotiques des lactobacilles, habitant le tractus vaginal, varient au cours de l'eubiose et de la dysbiose. Le microbiote vaginal est important pour préserver la santé vaginale et défendre l'hôte contre la maladie (**Pramanick et al., 2019**).

La pathogénie de la vaginose bactérienne est pensée pour inclure l'élimination ou la réduction de l'activité antibactérienne exprimée par les lactobacilles vaginaux indigène (**Skarin et Sylwan, 1986 ; Redondo-Lopez et al., 1990**). Les lactobacilles inhibent la croissance *in vitro* des organismes associés à la vaginose bactérienne, y compris les espèces de *Gardnerella*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus* et *Bacteroides*. De même, la vaginite à *Candida* consécutive à une antibiothérapie systémique a été attribuée à la perte de la population vaginale protectrice de lactobacilles (**Skarin et Sylwan, 1986 ; Redondo-Lopez et al., 1990**).

Deuxième chapitre

Importance des lactobacilles dans l'écosystème vaginal

I/ Potentiel des molécules tensioactives (MTAs) issues de *Lactobacillus*

De nombreux mécanismes potentiels ont été proposés pour être responsables des effets probiotiques des lactobacilles (**figure 3**). Les lactobacilles inhibent potentiellement les agents pathogènes de manière directe en produisant divers composés tels que l'acide lactique, les biosurfactants, le peroxyde d'hydrogène, la bactériocine, l'hydrolase et les sels biliaries. De plus, ils favorisent l'intégrité de l'épithélium en stimulant la sécrétion de mucus et régulent les cellules immunitaires en inhibant les agents pathogènes bactériens et viraux (**Spurbeck et Arvidson, 2011; Dasari, 2019 ; Sanders et al., 2019**).

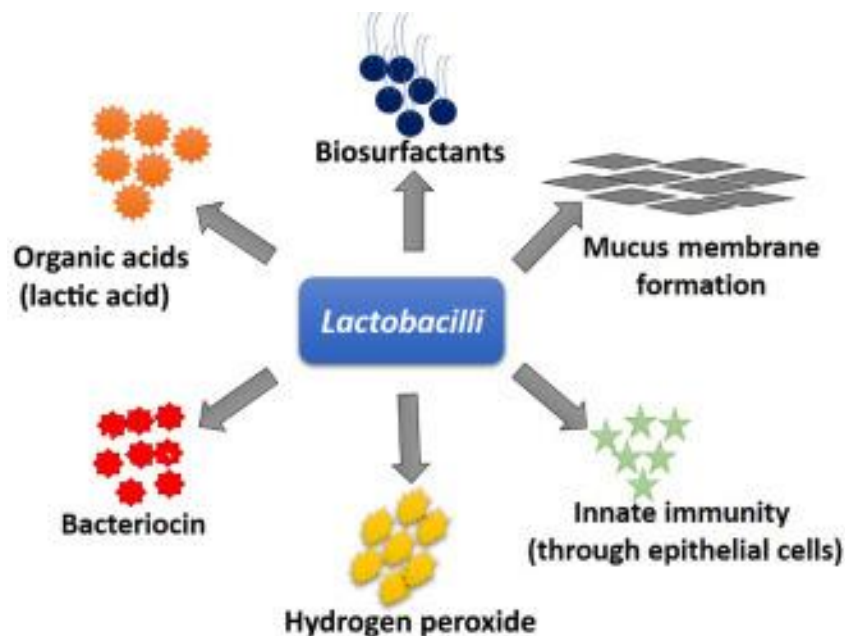


Figure 3: Mode d'action des espèces vaginales de *Lactobacillus* (**Dasari, 2019**).

Les caractéristiques probiotiques des lactobacilles associées à l'interaction hôte-*Lactobacillus* seraient dues aux MTAs de *Lactobacillus* (**Lebeer et al., 2008**). Les MTAs de *Lactobacillus* qui ont été signalées pour soutenir les actions probiotiques sont : le peptidoglycane (PG), les polysaccharides bactériens, les biosurfactants (BS), et les acides téchoïques (AT) (**Lebeer et al., 2010; Hajfarajollah et al., 2018**). Les principales MTAs partagées par les lactobacilles comprennent l'acide lipotéchoïque, les polysaccharides, les protéines associées à la couche superficielle (PACS), les protéines de liaison aux mucines (LMU) et les protéines de liaison à la fibronectine (**Sanders et al., 2018**).

Ces MTAs de base régissent les interactions hôte-microorganisme lors de l'adhésion des lactobacilles. En fait, il a été démontré que les MTAs médient les réponses physiologiques de l'hôte directement via une adhérence directe aux cellules épithéliales et aux récepteurs de reconnaissance de formes (RRF) sur la couche muqueuse (Sanders *et al.*, 2018). Comme les MTAs de *Lactobacillus* pourraient jouer un rôle important dans la régulation de l'interaction hôte-microorganisme dans le vagin, la recherche sur ces MTAs devrait se concentrer davantage afin de produire de nouveaux traitements à base de MTAs, potentiellement comme alternative aux options thérapeutiques actuellement disponibles (Chee *et al.*, 2020).

➤ **Le système immunitaire et le microbiote vaginal**

Le vagin contient différentes cellules et récepteurs liés au système immunitaire qui peuvent reconnaître et réagir avec l'environnement microbien (Wira *et al.*, 2005). La surveillance des microbes dans le tractus génital féminin des microbes commensaux et pathogènes est généralement réalisée par la reconnaissance d'échantillons microbiens par le biais de récepteurs de reconnaissance de formes (RRF), tels que les récepteurs Toll-like (RTL), le récepteur dectine-1 et le domaine d'oligomérisation de liaison aux nucléotides (NOD) (figure 4). Ces récepteurs sont présents à la fois sur les cellules épithéliales squameuses tapissant le vagin et les cellules cylindriques tapissant le tractus génital féminin supérieur (Carvalho *et al.*, 2012 ; Mitchell *et al.*, 2014).

Des facteurs de défense variables de la réponse immunitaire innée, y compris la lectine de liaison au mannose (MBL), l'immunoglobuline A (IgA), l'immunoglobuline G (IgG), les peptides antimicrobiens vaginaux (AMP) et les défensines contribuent à l'élimination des microbes infectieux par différents mécanismes d'action. La stimulation microbienne des RRF initie des cascades de signalisation des cytokines/chimiokines, conduisant à la sécrétion d'interleukine et de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), afin de recruter ou d'activer des cellules spécialisées, notamment des macrophages, des lymphocytes T auxiliaires CD4+, des lymphocytes T cytotoxiques CD8+ et les lymphocytes B (Villa *et al.*, 2020).

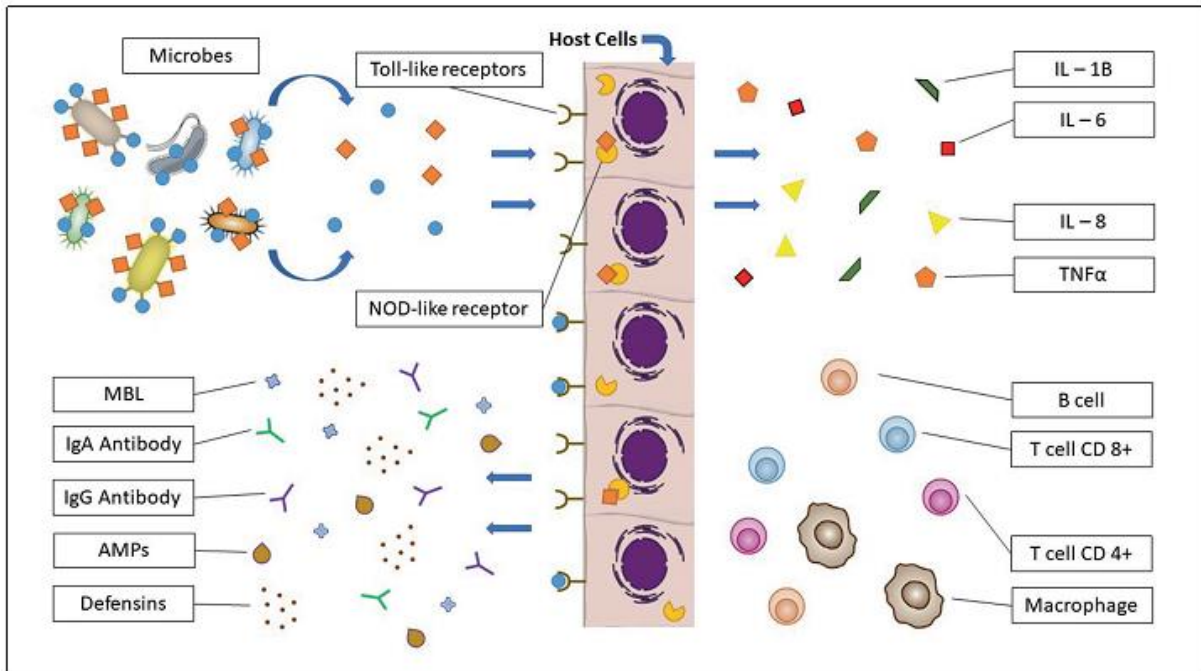


Figure 4. L'appareil génital féminin est constamment exposé aux microbes (Villa *et al.*, 2020).

I.1/Peptidoglycan (PG)

Le peptidoglycane (PG) est un biopolymère qui comprend des brins de glycane reliés par des chaînes latérales de N-acétyl-glucosamine (GlcNac) et d'acide N-acétylmuramique (MurNac) qui forment la surface cellulaire des bactéries Gram-positives telles que les lactobacilles (Delcour *et al.*, 1999 ; Duchêne *et al.*, 2019). Le type de PG représenté dans la **figure 5**, est le type de structure que l'on retrouve chez *L. lactis* et de nombreux lactobacilles. Dans d'autres espèces de lactobacille, la nature du pont interpeptidique (représenté par D-Asp/D-Asn sur la **figure 5**) peut varier, le troisième acide diaminé (L-Lys) peut être remplacé par mDAP ou L-ornithine, et le D-Ala en position cinq du peptide peut être remplacé par le D-lactate. Les modifications possibles de la structure du PG, telles que l'acétylation O (O-Ac), la N-désacétylation (conduisant à GlcNH₂) ou l'amidation (NH₂), sont indiquées en rouge. Les sites de clivage des différentes classes d'hydrolases PG sont indiqués par des flèches (Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014).

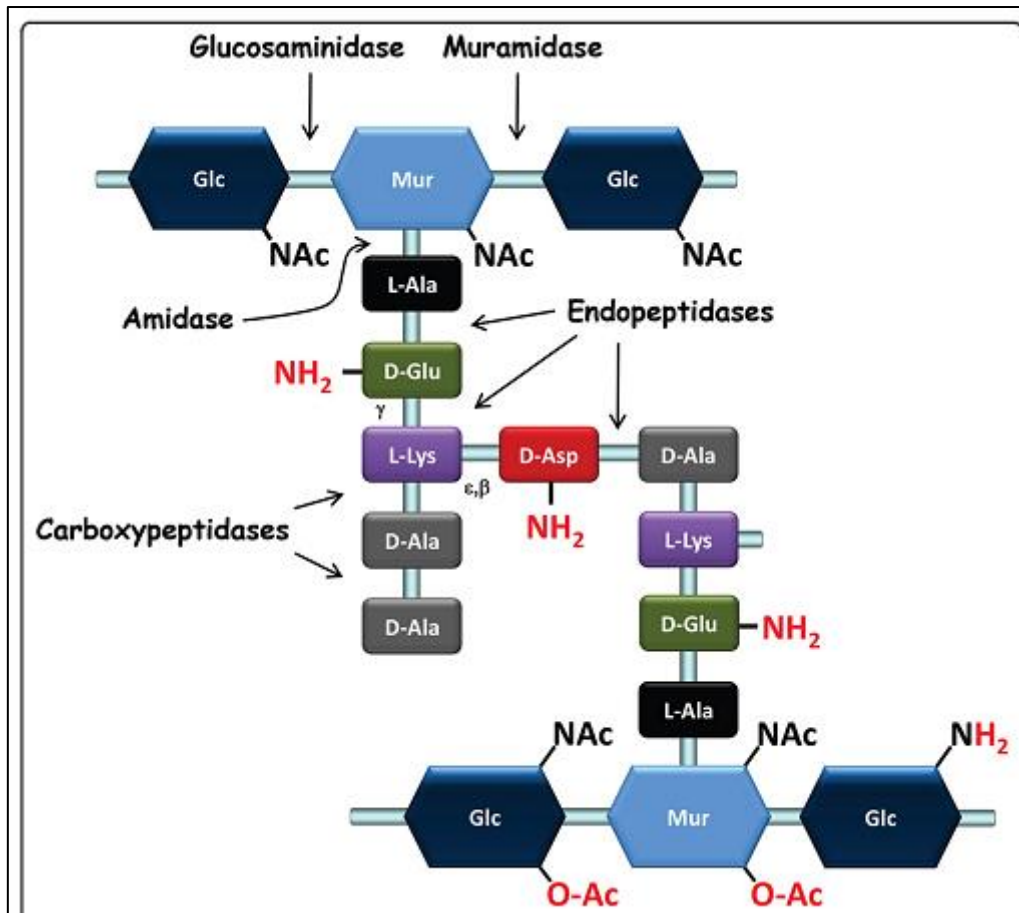


Figure 5 : Représentation schématique de la structure du peptidoglycane (Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014).

Généralement, la membrane cytoplasmique bilipidique de *Lactobacillus* (figure 6) avec des protéines intégrées est recouverte d'une coquille de peptidoglycane multicouche décorée de polysaccharides neutres, d'acides lipotéichoïques et d'acides téichoïques, entourée d'une enveloppe externe de protéines de la couche S ; par souci de clarté, les protéines associées à la paroi cellulaire ne sont pas représentées (Delcour *et al.*,1999; Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014).

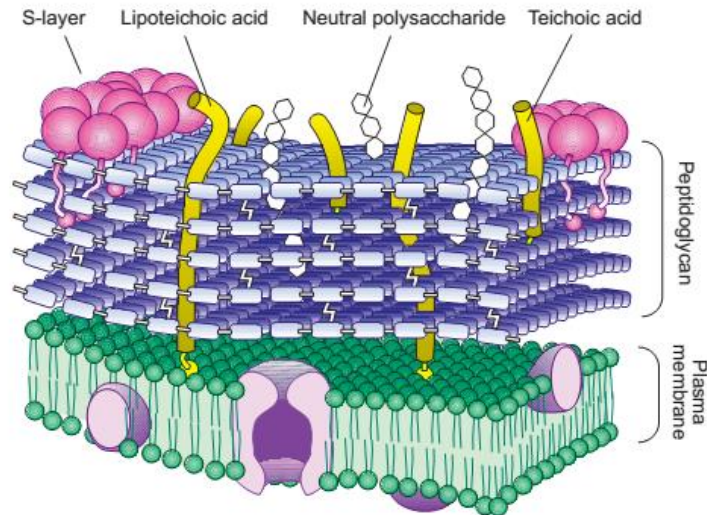


Figure 6: vue d'artiste de la paroi cellulaire d'une bactérie Gram-positive (**Delcour et al., 1999**).

En général, un agent pathogène des infections sexuellement transmissibles (IST) tel que *Neisseria gonorrhoeae* est capable de supprimer la réponse immunitaire adaptative induite par le Th-1 de l'hôte en inhibant la production d'interleukine-12 (IL-12) (**Liu et al., 2018**). Compte tenu de cela, l'administration intravaginale d'IL-12 microencapsulée a pu inverser l'immunosuppression chez la souris et favorise également l'élimination de l'infection par la gonorrhée (**Liu et al., 2018**). Dans le même temps, le PG de *Lactobacillus* démontre une activité immunomodulatrice exceptionnelle dans l'amélioration des réponses immunitaires innées de l'hôte. Par exemple, le PG de *Lactobacillus casei* a pu induire la production d'IL-12 par des macrophages péritonéaux de souris via les récepteurs toll-like 2 (TLR2) et le domaine d'oligomérisation de liaison nucléotidique 2 (NOD2) (**Shida et al., 2009**).

En plus de cela, le PG de l'isolat vaginal *L. crispatus* a pu stimuler l'expression du CD207 des cellules de Langerhans (cellules dendritiques présentatrices d'antigène sur le vagin) et a considérablement réduit l'expression des récepteurs pour l'entrée du VIH (**Song et al., 2018**). L'équilibre du microbiote vaginal et du système immunitaire dans les cellules épithéliales vaginales est crucial pour prévenir l'infection vaginale (**Torcia, 2019**). L'effet potentiel du PG dans la modulation de l'homéostasie immunitaire pourrait contribuer efficacement au maintien d'un écosystème vaginal sain pour la santé et le bien-être des femmes.

Outre l'activité immunomodulatrice signalée, le PG de *L. brevis* a également présenté une forte activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex génital-2 (HSV-2) l'activité antivirale de PG *L. brevis* n'était pas affectée par le traitement à la chaleur et à la protéase, et elle inhibait encore significativement la réplication de HSV-2 d'une manière dépendante de la concentration (Mastromarino *et al.*, 2011).

I.2/Acide lipotéichoïque (LTA)

Le PG de *Lactobacillus* est généralement décoré avec des acides téichoïques (TA) ou des acides lipotéichoïques (LTA) (Bronet *al.*, 2012). Les acides lipotéichoïques sont générés par la polymérisation du glycérol-phosphate et sont liés à la membrane cytoplasmique (Tomita *et al.*, 2010 ; Andre *et al.*, 2011).

Les acides téichoïques de la paroi (WTA) et les LTA à structure de chaîne poly (glycérolphosphate) sont représentés dans la **figure 7**. Les WTA sont liées de manière covalente au PG par une liaison phosphodiester à l'hydroxyle C6 de MurNAc via une unité de liaison qui consiste généralement en un disaccharide et une unité glycérol-phosphate. Les LTA sont ancrés à la membrane cytoplasmique par un glycolipide (indiqué en gris), qui est un diglucosyldiacylglycérol. Le R- indique les substituants (par exemple, D-Ala, Glc, Gal ou GlcNAc) trouvés sur les chaînes glycérol-phosphate (Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014).

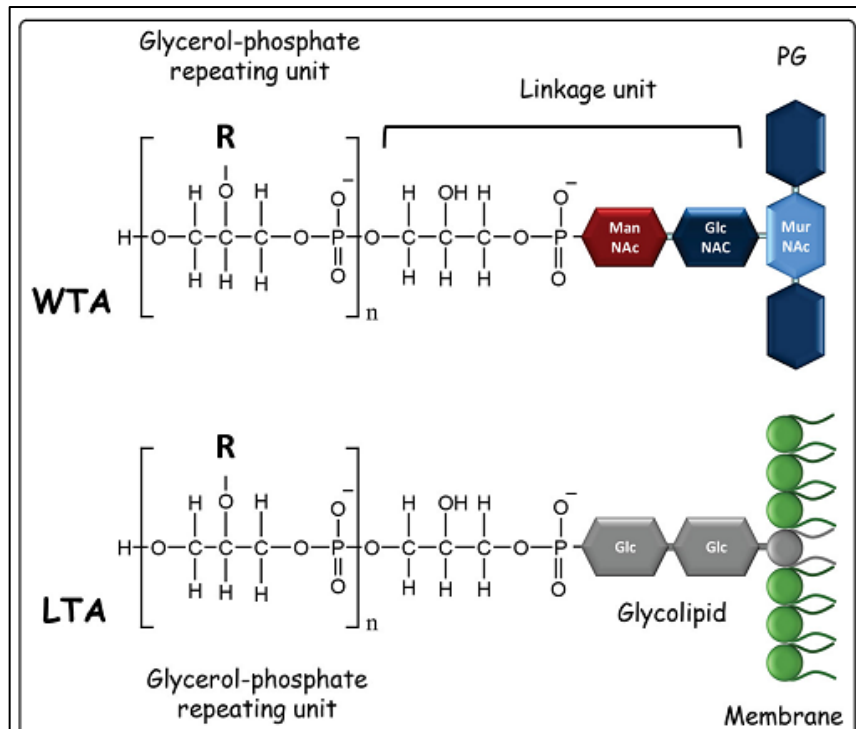


Figure 7: Représentation schématique de la structure de l'acide téichoïque de la paroi (WTA) et de l'acide lipotéichoïque (LTA) (Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014).

Avec d'autres MTAs, le ALT module les récepteurs de reconnaissance des formes de l'hôte (PPR) et plusieurs voies de signalisation de l'hôte qui sont responsables de l'effet probiotique et de l'anti-pathogène de *Lactobacillus* (Lebeer *et al.*, 2010). L'éradication des biofilms polymicrobiens dans le vagin humain est l'une des stratégies qui peuvent être utilisées pour empêcher la virulence bactérienne et prévenir l'apparition de la VB (Hardy *et al.*, 2017). L'LTA de *Lactobacillus plantarum* a entravé la formation de biofilms de *S. mutans* sur des disques d'hydroxyapatite via l'atténuation de la décomposition du saccharose (Ahn *et al.*, 2018). De plus, LTA de *L. plantarum* a inhibé de manière significative la formation de biofilm d'*E. faecalis* et préformé un biofilm sur des tranches de dentine humaine, suggérant que l'LTA peut être utilisé comme mesure préventive et thérapeutique pour l'infection à *E. faecalis* (Jung *et al.*, 2019). Outre des propriétés anti-adhérence et anti-biofilm, l'LTA de *Lactobacillus* possède également une activité immunomodulatrice. Par exemple, les LTAs de *Lactobacillus johnsonii* La1 et *Lactobacillus acidophilus* La10 ont amélioré la surstimulation de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-8 et l'interleukine-5 (ENA-78) dans les cellules épithéliales intestinales, en présence de lipopolysaccharides (LPS) ou de bactéries Gram négatives (Vidal *et al.*, 2002).

Les patients atteints de VB et les maladies sexuellement transmissibles sont souvent associés à une surstimulation des cytokines pro-inflammatoires et au recrutement des neutrophiles à la surface de la muqueuse vaginale (**Pericolini et al., 2018; Masson et al., 2019**). Ainsi, l'activité immunomodulatrice des LTA des lactobacilles pourrait atténuer la surstimulation et l'inflammation vaginale causées par les agents pathogènes (**Chee et al., 2020**).

I.3/Polysaccharides bactériens

Les bactéries forment des polymères étroitement liés à la surface des cellules et les libèrent dans l'environnement sous forme d'exopolysaccharides (EPS) (muqueux non attachés) (**Hassan et al., 2001 ; Anukam et al., 2006**). En exploitant les polysaccharides de surface pour imiter la structure glycane de l'hôte, les bactéries pathogènes sont capables d'échapper au système immunitaire de l'hôte pendant la colonisation (**Poole et al., 2018**). Généralement, les EPS sécrétés par les bactéries sont cruciales pour l'adhésion et la reconnaissance cellulaire lors de l'interaction hôte-micro-organisme (**Laiño et al., 2016**). Les EPS sont des polymères glucidiques biodégradables de poids moléculaire élevé et sont désignés en homopolysaccharides ou hétéropolysaccharides en fonction de leurs constituants monosaccharides (**Badelet et al., 2011; Salazar et al., 2016**). Les EPS des bactéries lactiques ont attiré une attention considérable au cours de la dernière décennie en raison de leur capacité à inhiber les toxines bactériennes produites par *Bacillus cereus* (**Ruas-Madiedo et al., 2010**). Collectivement, les deux facteurs concomitants qui affectent la production d'EPS (souches de *Lactobacillus* et source de carbone) a entraîné des propriétés rhéologiques distinctes de l'EPS qui peuvent influencer l'activité fonctionnelle de l'EPS. Les propriétés physicochimiques uniques de l'EPS de *Lactobacillus* ont le potentiel de conférer des avantages pour la santé humaine car il a été rapporté qu'il possède des propriétés anti-athéroscléreuse, anticancéreuse, antioxydantes, antivirales, anti-levures propriétés immunomodulatrices et prébiotiques (**Patten et Laws, 2015; Allonsius et al., 2017**). La défensine-2 humaine est un peptide antimicrobien sécrété par les cellules épithéliales de l'hôte qui aide à réguler l'inflammation et la fonction du microbiote dans le tractus vaginal (**Meade et O'Farrelly, 2019**). En conséquence, l'EPS de *Lactobacillus crispatus* L1 a fortement amélioré la capacité de la cellule épithéliale vaginale VK2 à produire la protéine défensine-2 humaine (effet *Candida*) et a également réduit l'adhésion de *C. albicans* (48%) par exclusion compétitive (**Donnarumma et al., 2014**).

Il est perceptible que la commutation levure-hyphes est cruciale pour la pathogénèse et l'immunopathogénèse de *C. albicans* (Sudbery, 2011). Une étude menée a rapporté que l'EPS de *L. rhamnosus* GG inhibait de 40 % la formation d'hyphes chez *C. albicans*. La vaginose bactérienne est caractérisée par la présence d'un biofilm polymicrobien sur l'épithélium vaginal (Machado *et al.*, 2016). L'EPS de *Lactobacillus plantarum* WLPL04 réduisait considérablement l'adhésion de cellulaire *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *Salmonella typhimurium* à la lignée cellulaire HT-29 (Liu *et al.*, 2017), qui en font un agent antibiofilm potentiel qui mérite d'être développé pour une meilleure gestion de la VB. L'apparition de la VB a été associée à la formation d'un stress oxydatif élevé (par exemple, niveau élevé de production de malondialdéhyde (MDA) et faible activité de superoxyde dismutase (SOD) et dégradation de la mucine dans le milieu vaginal (Chen *et al.*, 2015; Hoang *et al.*, 2020). Ainsi, il est crucial qu'une capacité antioxydante élevée de l'épithélium vaginal puisse réduire le stress oxydatif formé pendant l'infection par la VB et renforcer le système immunitaire vaginal contre les agents pathogènes. L'EPS de *Lactobacillus plantarum* C88 a également démontré des effets antioxydants élevés en réduisant le niveau de MDA et en augmentant l'activité de la SOD de manière dose-dépendante. (Zhang *et al.*, 2013). En effet, il a été démontré que la mucine prévient l'adhésion des agents pathogènes vaginaux et favorise l'adhésion des bactéries lactiques sur les cellules épithéliales (Amabebe et Anumba, 2018). Les propriétés prébiotiques de l'EPS ont été activement explorées. Généralement, les prébiotiques peuvent être extraits de sources naturelles pour servir de source d'énergie aux cellules épithéliales et stimuler la croissance de bactéries bénéfiques dans l'intestin (Kerry *et al.*, 2018). Il a été suggéré que les polysaccharides des EPS probiotiques jouent un rôle dans l'augmentation de l'abondance de la flore normale à la surface intestinale par le biais de la diaphonie bactérienne (Rios-Covianet *et al.*, 2016). L'extrapolation peut être faite qu'une interaction similaire pourrait être observée dans les bactéries bénéfiques dans le milieu vaginal (Chee *et al.*, 2020).

I.4/Biosurfactant (BS)

Les biosurfactants (BS), également appelés bio émulsifiants, sont des composés actifs amphipathiques majoritairement synthétisés par des micro-organismes (Rodrigues *et al.*, 2006). Ces molécules amphipathiques ont permis aux micro-organismes de réduire la tension superficielle et interfaciale entre la solution aqueuse et l'émulsion (Franzetti *et al.*, 2010).

Les BS biologiques peuvent être classés en surfactant de faible poids moléculaire (par exemple, glycolipides et lipopeptides) et en surfactant de haut poids moléculaire (par exemple, complexes de glycoprotéines, lipopolysaccharides et lipoprotéines) (Van Hamme *et al.*, 2006). Outre son rôle important dans l'agriculture, l'alimentation animale, les industries cosmétiques, alimentaires et pétrolières, BS a récemment attiré l'attention de la communauté scientifique en raison de son potentiel de bioremédiation (Naughton *et al.*, 2019; Mujumdar *et al.*, 2019). Il a été rapporté que les biosurfactants présentent des caractéristiques anti-adhérence et antimicrobiennes en modifiant la chimie de surface pour la fixation microbienne (Spurbeck et Arvidson, 2011). En ce qui concerne le BS produit par *Lactobacillus*, il a été récemment rapporté que le BS de *L. acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus debrueckii* ATCC 9645 et *Lactobacillus paracasei* 11 réduisait considérablement la formation de biofilm de l'agent pathogène vaginal *C. albicans* de 40 à 50 % (Itapary *et al.*, 2019). Outre l'inhibition du biofilm de *C. albicans*, le BS de *L. jensenii* P6A et *L. gasseri* P65 a également présenté de puissantes activités antimicrobiennes et anti-biofilm contre plusieurs agents pathogènes urogénitaux tels que *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Enterobacter aerogenes* (Morais *et al.*, 2017). De multiples études ont également été réalisées pour identifier les effets de BS des lactobacilles contre d'autres agents pathogènes vaginaux et uropathogènes. Selon Spurbeck et Arvidson (2012), BS de *L. gasseri* 33323 a démontré une activité anti-adhésion contre l'agent pathogène sexuellement transmissible *Neisseria gonorrhoeae* en bloquant la fibronectine, un composant de la matrice extracellulaire sur les cellules épithéliales. Le biosurfactant de *L. crispatus* a également inhibé de manière significative la croissance de *N. gonorrhoeae* (> 50 %) après incubation à deux moments, c'est-à-dire 7 min et 60 min (Foschi *et al.*, 2017). Récemment, le BS de *L. crispatus* BC1 a également démontré une activité anti-adhésion *in vitro* significative contre *C. albicans* par le biais d'un mécanisme d'exclusion sur la lignée cellulaire HeLa du cancer du col de l'utérus humain et une activité immunomodulatrice *in vivo* en réduisant l'afflux de leucocytes (c'est-à-dire en prévenant les dommages aux muqueuses) causée par *C. albicans* chez la souris (De Gregorio *et al.*, 2020). Sur la base de ces découvertes, il est concevable que le mécanisme d'action de BS de *Lactobacillus* implique une interruption de l'adhérence plutôt que la destruction des agents pathogènes envahisseurs (Chee *et al.*, 2020).

Troisième chapitre

L'effet des antibiotiques prescrits dans les infections gynécologiques sur les lactobacilles vaginaux

I/Introduction

L'une des avancées majeures du début du 20^{ème} siècle a certainement été la découverte des antibiotiques (Stokes et Gillings, 2011). En commençant par la pénicilline découverte par Alexander Fleming en 1928 (Van Hoek *et al.*, 2011), les découvertes ultérieures de nouveaux antibiotiques ont changé la perspective dans le traitement des maladies infectieuses (Wenzel, 2004).

Les altérations de la composition microbienne de l'écosystème vaginal sont liées à plusieurs effets néfastes sur la santé tels que la vaginose bactérienne, la vaginite aérobie et la vaginite à levures. Les antibiotiques sont généralement prescrits pour traiter la vaginose bactérienne, alors que la vaginite aérobie nécessite fréquemment un traitement local combiné avec un antibiotique (composant infectieux); stéroïdes (composant inflammatoire); et / ou des oestrogènes (composant d'atrophie). Le traitement antimicrobien n'est généralement pas totalement efficace en raison de bactéries résistantes aux antibiotiques ou en cas de réinfection (Menard, 2011 ; Eade *et al.*, 2012). La prise d'antibiotiques à large spectre peut également éradiquer la flore vaginale normale, permettant une prolifération de levures principalement l'espèce *Candida albicans* (Spinillo *et al.*, 1999 ; Sobel, 2007).

II/Définition

Les antibiotiques ont été définis comme des composés naturels, semi-synthétiques ou synthétiques qui peuvent soit inhiber la croissance bactérienne (bactériostatique) soit tuer les bactéries (bactéricides). Selon leur activité, ils sont utilisés contre un large éventail de bactéries pathogènes, y compris les souches Gram positives et Gram négatives (antibiotiques à large spectre) ou contre un groupe spécifique de bactéries (antibiotiques à spectre étroit) (Demain et Sanchez, 2009).

III/Classification

De nos jours, différentes classes d'antibiotiques sont connues et peuvent être classées en fonction de leur mécanisme d'action (figure 8).

En général, les antibiotiques interfèrent avec des processus cellulaires importants et peuvent, par exemple, inhiber la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne (β -lactames et glycopeptides), inhiber la synthèse des protéines (aminoglycosides, macrolides, tétracycline et chloramphénicol), interférer avec la synthèse de l'ADN et l'ARN (quinolones ou rifampicine) ou modifier le métabolisme énergétique de la cellule microbienne, c'est-à-dire la synthèse des folates (sulfonamides et triméthoprime) (Neu, 1992).

Comme mentionné auparavant, les lactobacilles étant principalement associés à la résistance aux macrolides et aux tétracyclines. Les antibiotiques pertinents pour les tests de sensibilité des lactobacilles, le mode d'action et les mécanismes de résistance de ces médicaments sont résumés dans le **tableau 2**.

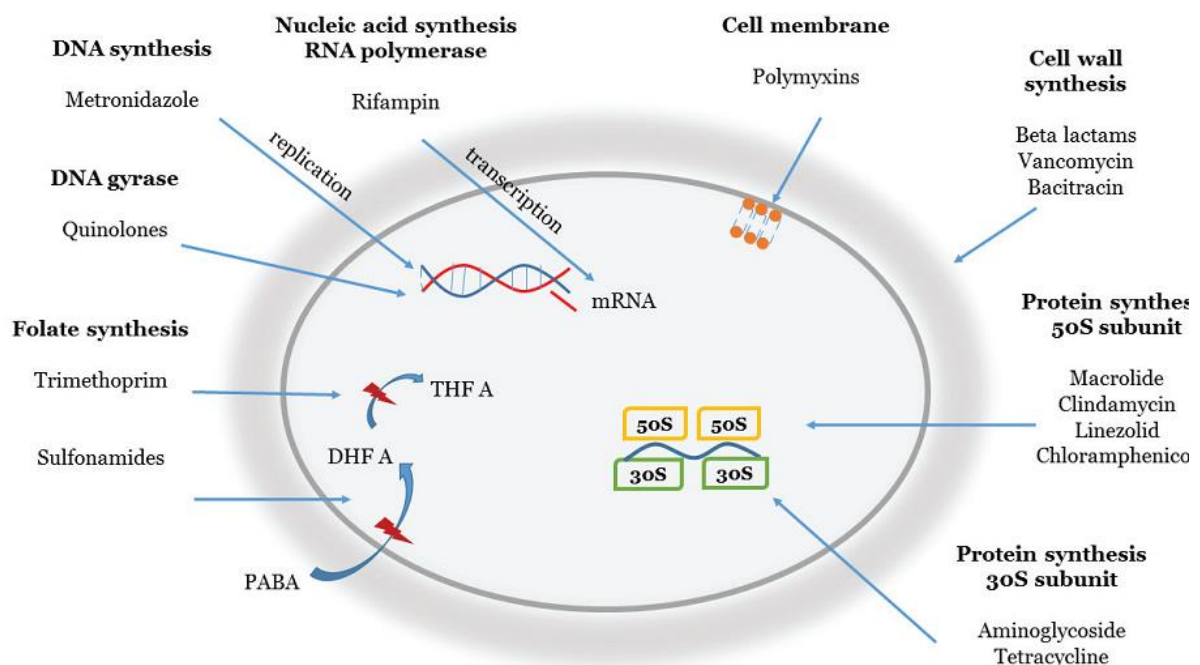


Figure 8 : mécanismes d'action des antibiotiques (Johnson, 2011).

Tableau 2 : Antibiotiques, leurs classes, modes d'action et mécanismes de résistance (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Antibiotique	Classe	Mode d'action	Mécanisme de résistance
Ampicilline	Bétalactames	Inhiber l'étape de transpeptidation dans la synthèse du peptidoglycane en se liant aux PLP	Majeure mutation des bêtalactamases dans les PLP
Vancomycine	Glycopeptides	Se lie aux précurseurs du peptidoglycane D-Ala- D-Ala les rendant inaccessibles aux PLP	Précurseurs de peptidoglycane se terminant par D-Ala-D-lactate
Streptomycine, Amikacine, Gentamicine, Kanamycine, Neomycine,	Aminoglycosides	Lier la sous-unité ribosomique 30s	Enzymes modifiant les aminosides
Linezolide,	Oxazolidinones	Lier la sous-unité ribosomique 30s	Mutation de l'ARNr 23S
Oxy/tetracycline	Tétracyclines	Lier la sous-unité ribosomique 30s	Efflux de protection des ribosomes
Erythromycine	Macrolides	Lier la sous-unité ribosomique 30s	Méthylation ou mutation de l'ARNr 23s ; efflux
Clindamycine	Lincosamides	Lier la sous-unité ribosomique 50s	Méthylation ou mutation de l'ARNr 23s ; efflux
Dalfopristine Quinupristine	Streptogramines	Lier la sous-unité ribosomique 50s	Méthylation ou mutation de l'ARNr 23s ; efflux
Chloramphénicol	Phénicols	Lier la sous-unité ribosomique 50s	Chloramphénicol acétyltransférases
Triméthoprim /sulfonamide	Triméthoprim /sulfonamide	Inhiber la voie du tétrahydrofolate	Mutation dans les enzymes cibles

IV/Utilisation des antibiotiques et émergence de la résistance aux antibiotiques

Au fil des ans, l'utilisation étendue des antibiotiques, estimée à 100-200 x10⁶ kg/an dans le monde (Wise, 2002; Anderson et Hughes, 2010), a conduit à une augmentation considérable de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries pathogènes (Nikaido, 2009). En fait, de grandes quantités d'antibiotiques sont utilisées non seulement à des fins cliniques, mais aussi dans la production animale en tant qu'agents thérapeutiques ainsi que promoteurs de croissance, ce qui entraîne une pression sélective pour l'émergence, l'enrichissement et la propagation de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (Anderson et Hughes, 2012). Analogues au mécanisme d'actions, différents mécanismes permettent aux bactéries de devenir résistantes aux antibiotiques (tableau 2, figure 9). Ces mécanismes incluent une diminution de la perméabilité de la paroi cellulaire bactérienne, une modification enzymatique des antibiotiques, une dégradation des antibiotiques, une modification de la cible, une surproduction de l'enzyme cible ou la présence de pompes à efflux dans la cellule bactérienne (Aleksun et Levy, 2007). Des preuves convaincantes du transfert de gènes de résistance aux antibiotiques entre les bactéries commensales Gram-positives et Gram-négatives et entre les bactéries aérobies et anaérobies ont été rapportées (Courvalin, 1994; Salyer *et al.*, 2004 ; Ojo *et al.*, 2006).

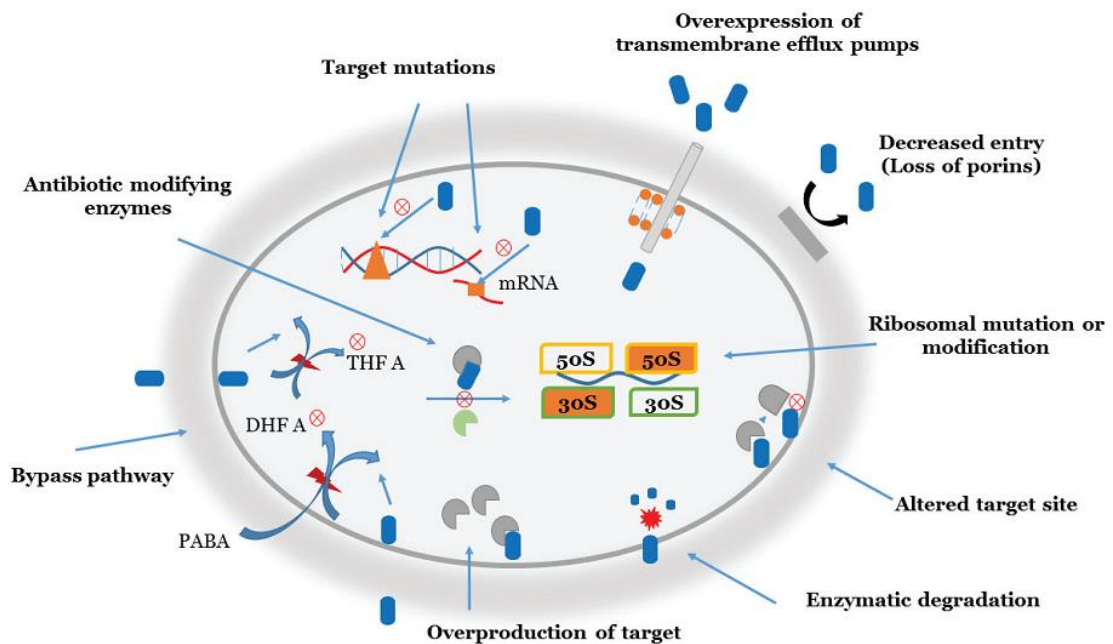


Figure 9 : les sites cibles et les mécanismes de défense utilisés par les bactéries pour prévenir les effets néfastes causés par les antibiotiques (Hawkey,1998).

V/Les infections gynécologiques les plus courantes

V.1/ La vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est une maladie très répandue chez les femmes du monde entier. Il se caractérise par un écoulement blanc-gris et homogène (contenant des cellules épithéliales exfoliées et, fixées à leurs surfaces, des bactéries polymorphes à Gram variable), ainsi qu'un pH $\geq 4,5$ avec un processus non inflammatoire au niveau de l'épithélium. Ce trouble est associé à de graves changements dans la composition du microbiote vaginal, tels que la diminution de *Lactobacillus* et la colonisation par des micro-organismes anaérobies, principalement *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*.,spp, *Atopobiumvaginae*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, *Mobiluncus*.,spp (**Donders et al., 2017 ; Kaambo et al., 2018**). Ces bactéries pathogènes peuvent être retrouvées en faibles quantités dans la flore vaginale à l'état normal, en tant que commensales et en l'absence d'infection (**Marie, 2018**). Dans ce trouble, un biofilm résistant aux antibiotiques se forme généralement sur les cellules épithéliales vaginales (dénommées "clue cells"), ce qui augmente la persistance et la récurrence de l'infection (**Di Paola et al., 2017**).

V.2/ La vaginite aérobie

Le trouble vaginal connu sous le nom de vaginite aérobie a été décrit en 2002 comme un besoin de le différencier de la vaginose bactérienne (**Donders et al., 2002 ; Donders, 2007**). Dans la première condition, la microflore de *Lactobacillus* est perturbée, déclenchant une augmentation du pH (entre 6 et 8) et un écoulement homogène jaune ou jaune-vert est présent. De plus, une augmentation du nombre de cellules intermédiaires et parabasales est observée, indiquant une augmentation du renouvellement et de la desquamation des couches superficielles de cellules épithéliales, qui induisent une inflammation épithéliale. Comme mentionné précédemment, les espèces de *Lactobacillus* remplissent une fonction indispensable dans le microbiote vaginal en inhibant la croissance des pathogènes urogénitaux. Par conséquent, la diminution ou l'absence de lactobacilles permet la prolifération de micro-organismes aérobies, principalement des streptocoques du groupe B, *S.aureus* et *E.coli* (**Tempera et al., 2006**).

Selon celui rapporté par **Donders et al. (2002)** chez les patients atteints de vaginite aérobie, *S.aureus* était l'organisme le plus répandu, suivi par *E.coli*. Fait intéressant, d'autres auteurs **Di Paola et al. (2017)** ont rapporté que les streptocoques du groupe B et les entérobactéries sont les espèces les plus fréquentes dans cette condition pathologique.

Ces légères différences peuvent dépendre de différents facteurs, tels que l'âge, la race ou les partenaires sexuels (**Leyva-Gómez, 2019**).

V.3/La vaginite à levure

La vaginite à levures est caractérisée par un écoulement blanc, des démangeaisons locales et une irritation (**Sobel, 2007**). La majorité des cas sont causés par *Candida albicans*, saprophyte exclusif des muqueuses digestives et espèce commensale de la flore vaginale qui devient pathogène au cours d'une prolifération importante favorisée par l'acidification du milieu vaginal. Les autres espèces pathogènes possible sont *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* (**Anonyme 1, 2013**). Elle est diagnostiquée par la détection microscopique d'un nombre dense de cellules de levure sur un frottis vaginal, et par un examen physique et la présence d'un écoulement de levure blanc, semblable au mucus. Il convient de noter que les lactobacilles sont souvent trouvés chez les patients atteints de vaginite à levures, par conséquent, l'induction de l'infection ne semble pas exiger que la levure déplace ou tue les lactobacilles (**Cribby et al., 2008**).

VI/ Impact des antibiotiques sur le microbiote vaginal

Les lactobacilles sont généralement sensibles aux antibiotiques spécifiques, tel que la pénicilline et la β -lactamase ciblant la paroi cellulaire, mais sont plus résistants aux céphalosporines. De nombreuses espèces de *Lactobacillus* présentent un niveau élevé de résistance à la vancomycine (**Gueimonde et al., 2013**). Le phénotype résistant à la vancomycine de certains lactobacilles est peut-être la résistance intrinsèque la mieux caractérisée. La vancomycine entre en contact avec les précurseurs du peptidoglycane du côté de la paroi cellulaire de la membrane cytoplasmique et se lie à l'extrémité D-alanine/D-alanine du pentapeptide, empêchant la polymérisation des précurseurs du peptidoglycane. Dans plusieurs espèces de *Lactobacillus*, le résidu terminal D-alanine est remplacé par le D-lactate ou la D-sérine dans le muramylpentapeptide, empêchant la liaison à la vancomycine (**Delcouret et al., 1999**) et donc devenir résistant à l'antibiotique.

De plus, la plupart des inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques semblent avoir un faible effet inhibiteur chez la majorité des espèces de *Lactobacillus*. D'autre part, les lactobacilles sont généralement sensibles à de faibles concentrations de nombreux inhibiteurs de la synthèse des protéines, tels que le chloramphénicol, les macrolides, les lincosamides et la tétracycline, mais leur résistance aux aminosides est souvent élevée. La résistance à d'autres antibiotiques varie considérablement entre les lactobacilles (**Gueimonde et al., 2013**).

Le métronidazole et la clindamycine sont les antibiotiques les plus couramment prescrits pour la dysbiose vaginale (**Verstraelen et Verhelst, 2009 ; Bradshaw et Brotman, 2015**). Ces antibiotiques sont également prescrits pour la gestion syndromique du syndrome des pertes vaginales et de la maladie inflammatoire pelvienne, dans l'intention de couvrir à la fois la vaginose bactérienne (VB) et *Trichomonas vaginalis* (TV), ou après un diagnostic confirmé en laboratoire de la VB et/ou de la TV (symptomatique). Le traitement de plusieurs jours de la VB avec du métronidazole ou de la clindamycine est souvent efficace, avec des taux de guérison directement après le traitement compris entre 65 et 90 % (**Paavonen et al., 2000 ; Verstraelen et Verhelst, 2009 ; Workowski et Bolan, 2015**). Le métronidazole et la clindamycine peuvent tous deux être administrés sous forme orale et vaginale, et la biodisponibilité dans le vagin est excellente après administration orale (**Freeman et al., 1997**). Les taux de guérison des formulations orales et vaginales de métronidazole et de clindamycine ne diffèrent pas significativement (**Ferris, 1995; Paavonen et al., 2000**).

La récurrence de la VB (symptomatique) après traitement au métronidazole est élevée, à des taux de plus de 50 % en un an (**Bradshaw et al., 2006; Hay, 2009 ; Bradshaw et Brotman, 2015**). On pense que la récurrence de la VB n'est pas due à la résistance aux antibiotiques, car la résistance au métronidazole (contrairement à la résistance à la clindamycine) n'a pas été couramment décrite dans les études de traitement de la VB basées sur la culture (**Beigi et al., 2004 ; Verstraelen et Verhelst, 2009; Hay, 2009**). Cependant, certaines études contredisent cela et rapportent une résistance au métronidazole chez les femmes atteintes de VB récurrente, en particulier dans les isolats avec des concentrations élevées de *G. vaginalis* (**Edwards, 1993; Knupp et al., 2016**). L'efficacité d'un traitement oral de sept jours au métronidazole pour la TV est élevée ; un traitement à dose unique est souvent administré pour maximiser l'adhésion, mais n'est pas aussi efficace (**Kissinger et al., 2018**).

Le métronidazole est un médicament de la classe des nitroimidazoles qui est métabolisé en radicaux nitroso par les espèces anaérobies et la TV, qui brisent l'ADN microbien et provoquent la lyse cellulaire (Edwards, 1993 ; Hrdý, 2005).

Bien qu'il soit parfois supposé que le métronidazole supprime les lactobacilles, des études basées sur la culture montrent que les lactobacilles ne sont pas sensibles au métronidazole (Charteris *et al.*, 1998; Goldstein *et al.*, 2015). La clindamycine est également couramment prescrite pour la VB (Verstraelen et Verhelst, 2009). Des études basées sur la culture montrent que *L. crispatus* et *L. jensenii* sont (partiellement) sensibles à la clindamycine, alors que d'autres lactobacilles tels que *L. iners* ne le sont pas (Danielsen et Wind, 2003 ; Melkumyan *et al.*, 2015). Le traitement à la clindamycine pourrait donc théoriquement diminuer à la fois les anaérobies de VB et *L. crispatus*, provoquant la prolifération des espèces non optimales de *L. iners* et augmentant le risque de récurrence de la VB (par rapport à un microbiote vaginal dominé par *L. crispatus*).

La clindamycine a également été décrite comme étant un traitement efficace pour certaines espèces de pathobiontes telles que *S. agalactiae* (Sobel, 1994 ; Reichman et Sobel, 2014), mais cela n'a pas été étudié en profondeur dans des essais contrôlés randomisés. Aucune étude n'a évalué de manière exhaustive l'impact sur le microbiote vaginal des antibiotiques administrés pour les infections non gynécologiques, mais la candidose vulvovaginale (CVV) a souvent été décrite comme un effet secondaire de l'utilisation (systémique) d'antibiotiques (Pirotta *et al.*, 2004 ; Sobel, 2007).

Partie

Expérimentale

Matériel et méthodes

Partie expérimentale

L'intégralité de ce travail a été réalisée au laboratoire d'analyse médicale au service de bactériologie chez Dr. CHAIBADRAA et ainsi qu'au niveau du laboratoire de microbiologie N°01 de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. L'objectif principale de cette étude est de tester la sensibilité des lactobacilles vaginaux vis-à-vis aux différentes classes d'antibiotiques souvent prescrits dans le traitement des infections gynécologiques.

I/L'origine de la population des lactobacilles

Les vingt-sept lactobacilles vaginaux (88,89% *L.reuteri* et 11,11% *L.salivarius*) étudié, ont été isolé à partir des femmes saines et en âge de reproduction entre 18 et 45 ans. Le prélèvement des échantillons vaginaux a été effectué par une sage-femme de manière aseptique avec des écouvillons stériles, puis transportés directement au laboratoire d'analyse médicale, service de bactériologie à l'EPH Aïn Tedeles, W. Mostaganem. L'identification a été faite par une étude phénotypique qui a été réalisée au laboratoire de recherche de microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem, et par une étude génotypique réalisée au niveau de laboratoire de Microbiologie dans la faculté de médecine vétérinaire à l'université de Mustafa Kamel, Antakya-Turquie (**Bechelaghem, 2017**). Ces isolats sont conservés à -50°C dans un milieu MRS- glycérol à 30%.

II/Réactivation des lactobacilles

Les 27 isolats de lactobacilles ont été réactivé on MRSB (**annexe**) pendant 48h à 37°C en anaérobiose. Ces derniers ont été inoculés sur MRSA (**annexe**) et les boites ont été incubées à en anaérobiose, à 37 ° C pendent 48 h.

III/Tests de confirmation

III.1/Recherche de la catalase

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction : $H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2 O_2$ (**François et al., 2011**).

Partie expérimentale

Pour le faire, une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes a été déposée sur une lame de verre. Puis à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment d'une colonie de lactobacille a été prélevé pour le mettre en contact avec l'eau oxygénée. La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

III.2/Coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit :

Tout d'abord, la réalisation de frottis de bonne qualité est une condition préalable à toute coloration. Après la réalisation de bon frottis, on recouvre la lame de violet de gentiane une minute puis on le rejette. Ensuite, on la recouvre de lugol : une minute et on le rejette. Puis, on la décolore à l'alcool, la lame étant tenue inclinée. La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur du frottis. On stoppe la décoloration par un lavage à l'eau courante. Enfin, on recouvre la lame de fuschine diluée, trente secondes à une minute. Rincer à l'eau puis sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur. En fin, examiner à l'immersion. Les bactéries à coloration de Gram positive doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à coloration de Gram négative en rose (**François *et al.*, 2011**).

IV/Re-Conservation des isolats

Les isolats qui ont montré une coloration de Gram positive et une absence de catalase ont été cultivés dans des tubes de gélose MRS inclinés puis conservés à 4°C et à -80°C dans un MRS- glycérol à 30%.

V/Étude de la sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques

Le profil de résistance/sensibilité aux antibiotiques des isolats de lactobacilles a été testé via la méthode de diffusion sur milieu MRS (**Ocaña *et al.*, 2006**). Ce test a été effectué deux fois pour la majorité des antibiotiques.

09 disques d'antibiotiques de différentes classes utilisés souvent dans le traitement des infections génitales ont été choisis (**tableau 3**).

Partie expérimentale

Tableau 3 : Les antibiotiques testés sur les lactobacilles

Classe d'antibiotiques	Les antibiotiques testés
Les β lactamines	Pénicilline (P) (10 UI)
Glycopeptides	Vancomycine(VA)(30 μ g)
Aminoglycosides	Gentamycine(CN)(120 μ g)
Lincosamides	Clindamycine(DA)(2 μ g)
Phénicoles	Chloramphénicol (C) (30 μ g)
Quinolones	Acide Nalidixique (AN) (30 μ g) ciprofloxacine (Cip) (5 μ g)
Carbapénème	Imipenem (IPM) (10 μ g)
Autre	Rifampicine(RA) (5 μ g)

V.1/Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure sur milieu MRS, quelques colonies bien isolées ont été pris à l'aide d'une pipette Pasteur et inoculées dans 5ml de MRSB pour les activer 18h à 37°C en anaérobiose. La concentration de cet inoculum de 10⁸ UFC/ml correspond à 0,5 Mc Farland a été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre type JENWAY 6715 UV/Vix, réglé à 650 nm pour une densité optique 0,1. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est dilué, ou bien de MRSB s'il est trop concentré (**Rahal, 2005**).

V.2/L'Ensemencement

Une suspension de lactobacille équivalente à 0,5 McFarland, a été ensemencée dans des boites contenant le milieu MRS par un coton tige stérile puis laissées séchées avant de déposer les disques d'ATB. Ces derniers doivent presser à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée, le disque ne doit pas être déplacé (**Rahal, 2005**). L'incubation a été faite à 37° C pendant 48 h en anaérobiose. La lecture des résultats a été faite par la mesure des zones d'inhibition de la croissance des lactobacilles testés.

Résultats et discussion

I/Réactivation des lactobacilles

Les 27 isolats de lactobacilles réactivés sur milieu MRSA sont des colonies de petite taille (**figure10**) et de couleur blanchâtre à beige (**Dasari et al., 2014**).

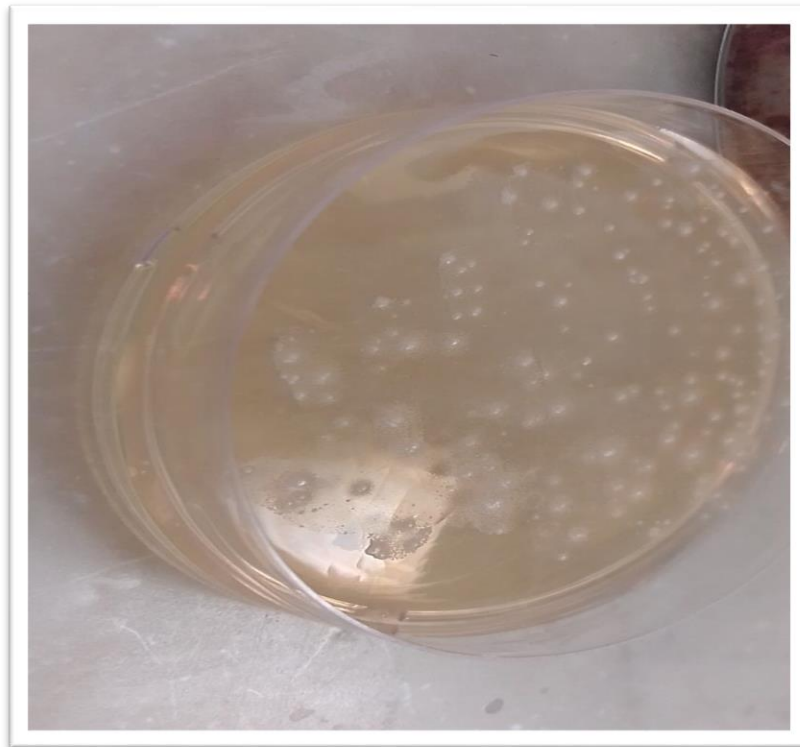


Figure 10: l'aspect macroscopique des colonies de lactobacilles sur milieu MRSA.

II/ Tests de confirmation

II.1/Coloration de Gram

L'observation microscopique des cellules après une coloration de Gram, a confirmé que tous les isolats sont des bacilles ou des coccobacilles à coloration de Gram positive (**figure 11**) (**Dasari et al.,2014**)

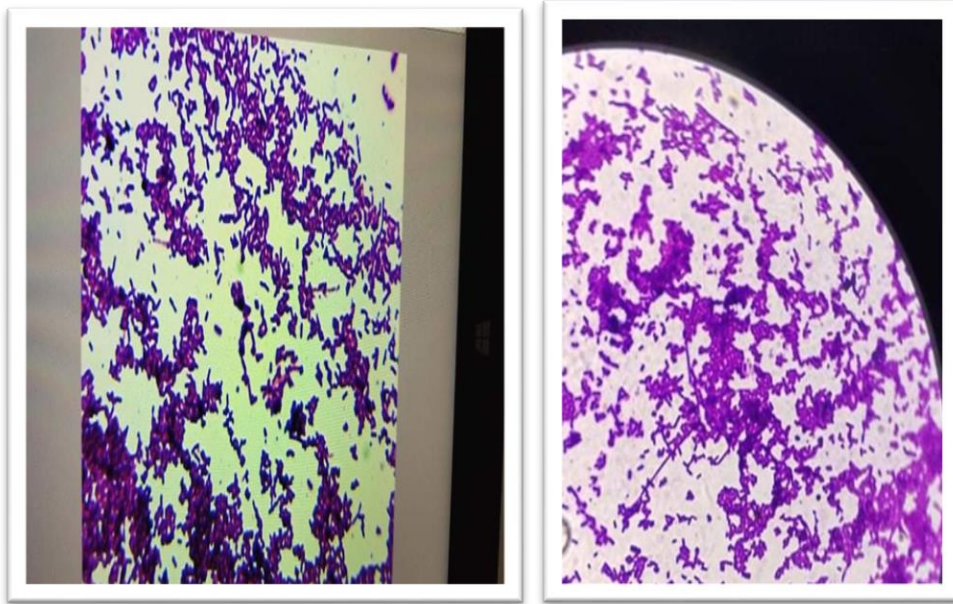


Figure 11 : observation des cellules de *Lactobacillus* sous microscope. Grossissement : 100×

II.2/Recherche de la catalase

Les 27 isolats sont catalase négative ce qui confirme que sont tous du genre *Lactobacillus* (Paul *et al.*, 2009).

III/Etude de la sensibilité des lactobacilles aux antibiotiques

L'effet des 9 antibiotiques sur les 27 lactobacilles a été étudié sur gélose MRS. Selon les données présentées dans le **tableau 4, figure 12, 13, 14 et 15**, nous avons constaté une différence remarquable dans la sensibilité des deux espèces de *Lactobacillus* (*L.reuteri* et *L.salivaruis*) aux antibiotiques testés. Les deux espèces sont sensibles aux antibiotiques (P, RA, CN, C, CIP, Det IPM « testé seulement sur *L.reuteri* due à sa manque »). Les plus grandes zones d'inhibition remarquées par l'antibiotique IPM arrivés jusqu'au 54 mm de diamètre sur *L.reuteri* (L1 et L21), ce qui montre que cette dernière espèce est trop sensible à cet antibiotique. Les deux espèces (*L.reuteri* et *L.salivaruis*) sont sensibles aussi à DA, C et RA avec des zones d'inhibition entre (30-46mm) et peu sensible à P, CIP et CN avec des zones entre (15mm-30mm). Tandis que ces deux espèces sont résistantes aux VA et AN.

Résultats et discussion

Tableau 4 : les zones d'inhibition (en mm) des 9 ATB testés sur les 27 isolats.

Isolats ATB																											
	<i>L.reuteri</i> (L1)	<i>L.reuteri</i> (L3)	<i>L.reuteri</i> (L4)	<i>L.reuteri</i> (L5)	<i>L.reuteri</i> (L6)	<i>L.reuteri</i> (L7)	<i>L.reuteri</i> (L10)	<i>L.reuteri</i> (L12)	<i>L.reuteri</i> (L13)	<i>L.reuteri</i> (L14t)	<i>L.reuteri</i> (L14b)	<i>L.reuteri</i> (L15)	<i>L.reuteri</i> (L16)	<i>L.reuteri</i> (L17)	<i>L.reuteri</i> (L18)	<i>L.reuteri</i> (L19p)	<i>L.reuteri</i> (L19g)	<i>L.reuteri</i> (L20)	<i>L.reuteri</i> (L21)	<i>L.reuteri</i> (L22)	<i>L.reuteri</i> (L23-2)	<i>L.reuteri</i> (L24)	<i>L.salivarius</i> (L25)	<i>L.reuteri</i> (L27)	<i>L.salivarius</i> (L28)	<i>L.reuteri</i> (L30)	<i>L.salivarius</i> (L31)
DA	35	30	36 --- 40	40 --- 35	38 --- 45	38 --- 43	38 --- 42	40 --- 45	33 --- 39	30 --- 45	30 --- 35	40 --- 40	40 --- 40	40 --- 39	40 --- 40	35 --- 40	46 --- 40	40 --- 38	40 --- 39	42	40	37 --- 32	33	35	43	43	35
CIP	15	15	17 --- 19	16 --- 10	15 --- 10	15 --- 15	18 --- 19	17 --- 18	20 --- 20	20 --- 20	16 --- 15	13 --- 18	18 --- 18	36 --- 15	17 --- 18	14 --- 15	18 --- 20	14 --- 19	24 --- 30	16	15	15 --- 15	19	15	18	15	15
VA	R	R	10 --- R	R --- R	10 --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	17	R	R --- R	R	R	R	R	R
C	28	30	35 --- 40	40 --- 40	35 --- 40	35 --- 42	34 --- 40	42 --- 45	38 --- 40	37 --- 40	30 --- 35	37 --- 38	35 --- 40	35 --- 35	30 --- 35	25 --- 35	40 --- 40	34 --- 40	45 --- 40	40	30	35 --- 34	36	35	36	36	40
NA	R	R	R --- R	R --- R	R --- R	13 --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R --- R	R- --- 09	R --- R	R	R	R --- 11	R	R	R	R	R
RA	34	36	35 --- 40	32 --- 30	35 --- 40	35 --- 40	36 --- 40	40 --- 40	30 --- 44	40 --- 40	35 --- 40	35 --- 37	35 --- 25	38 --- 36	34 --- 35	30 --- 30	40 --- 30	35 --- 40	34 --- 45	39	38	35 --- 35	34	34	38	39	35
P	10	R	16 --- 18	10 --- 10	15 --- 15	15 --- 15	15 --- 15	18 --- 20	15 --- 20	23 --- 10	16 --- 20	20 --- 20	20 --- 20	25	20 --- 18	18 --- 20	20 --- 15	25 --- 15	15 --- 20	20	25	14 --- 15	21	12	17	20	20
CN	20	20	20 --- 23	20 --- 25	20 --- 20	20 --- 20	20 --- 20	20 --- 25	23 --- 20	20 --- 24	18 --- 20	20 --- 24	12 --- 24	17 --- 25	15 --- 20	13 --- 20	27 --- 20	20 --- 25	20 --- 27	20	20	20 --- 20	20	20	19	18	20
IPM	54	40	34	46	47	44	33	47	30	46	38	48	45	50	48	44	50	50	54	47	47	40	/	/	/	/	/

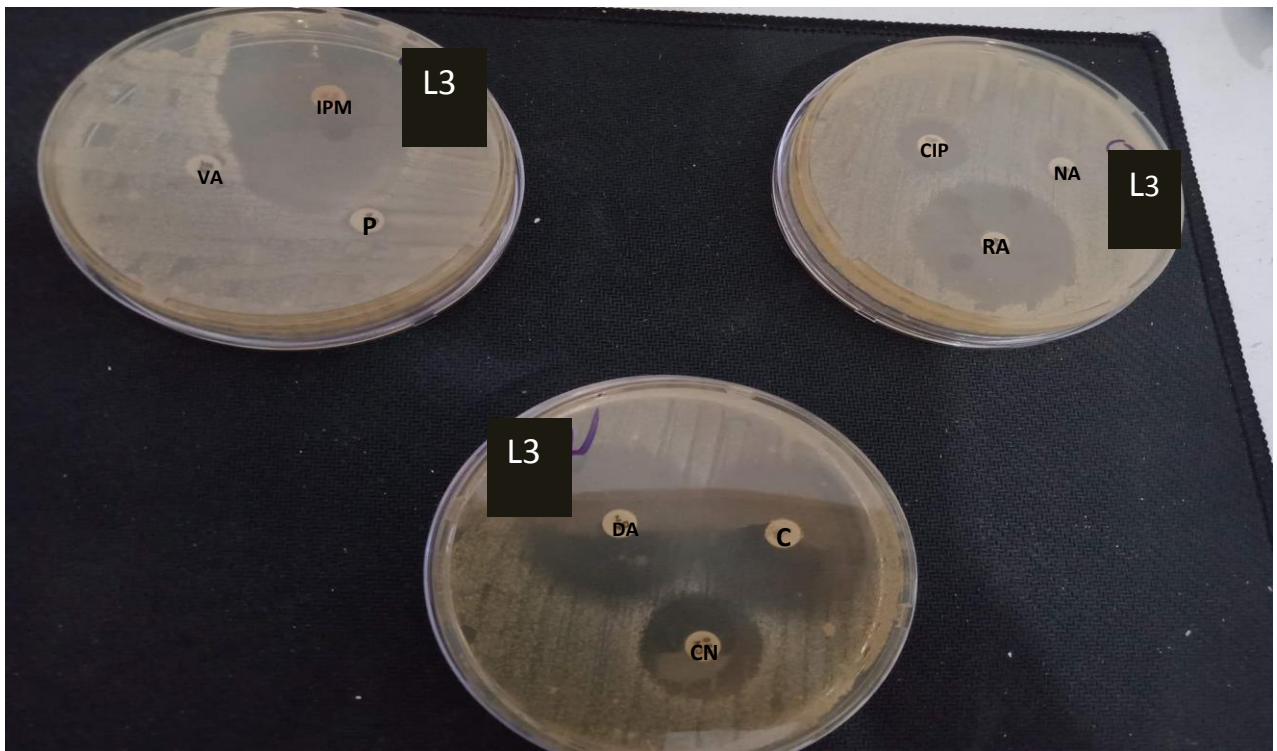


Figure 12: Effet des antibiotiques testés sur *L.reuteri* (L3) par méthode de diffusion sur milieu MRS

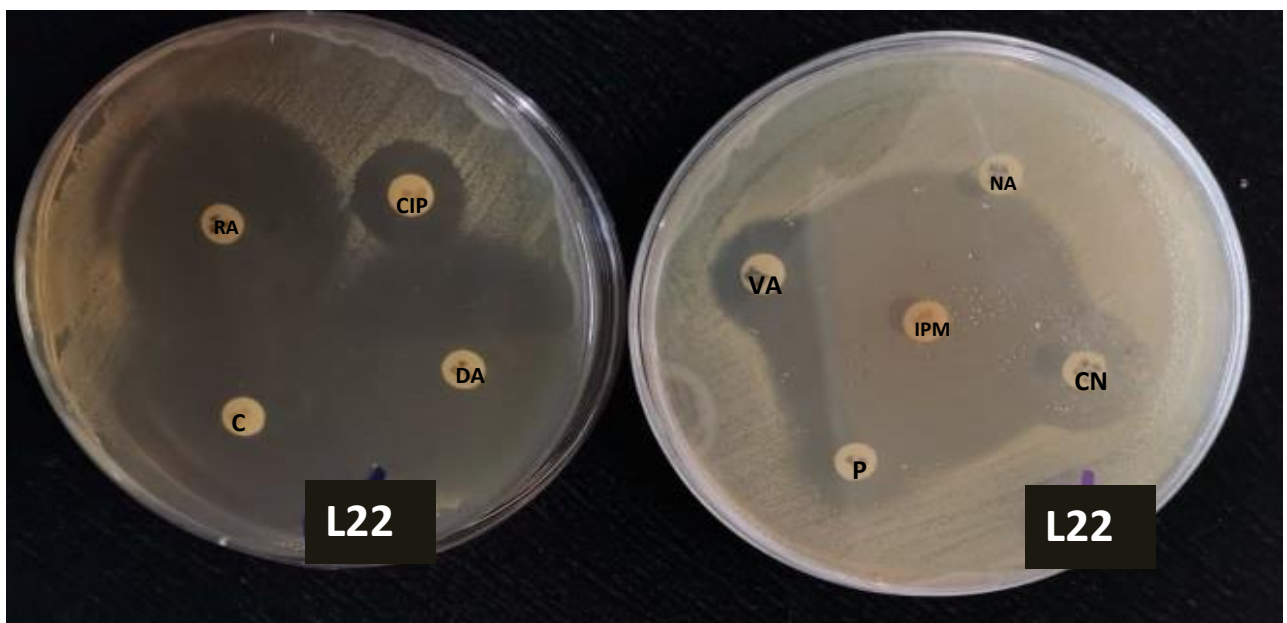


Figure 13: Effet des antibiotiques testés sur *L.reuteri* (L22) par méthode de diffusion sur milieu MRS

Résultats et discussion

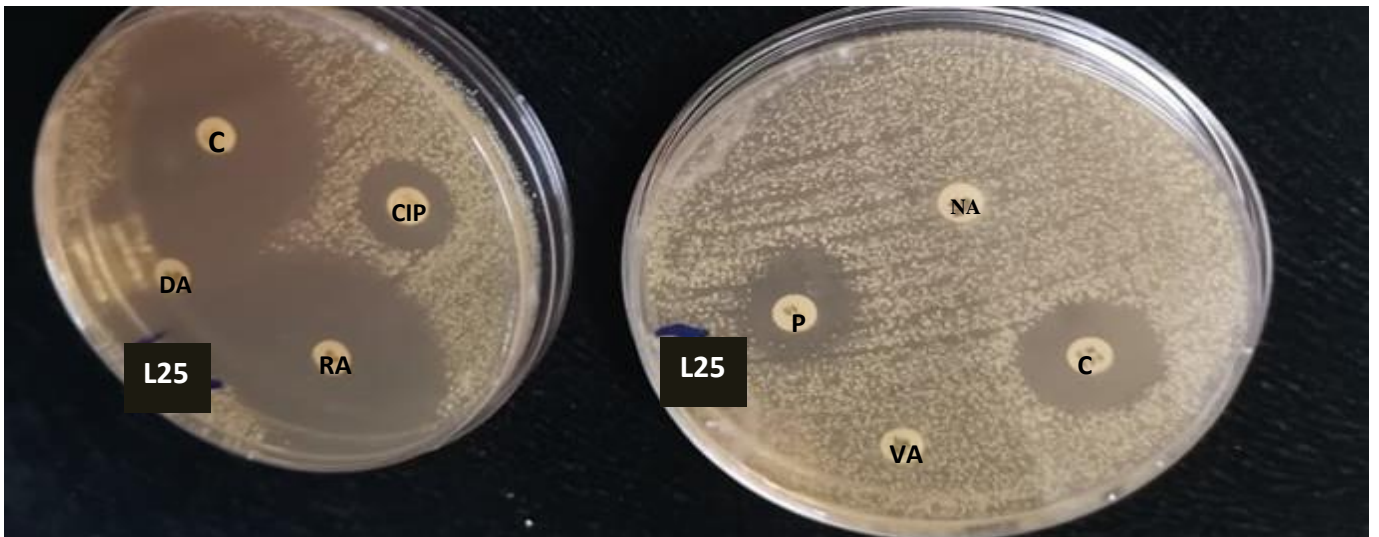


Figure 14: Effet des antibiotiques testés sur *L.salivarius* (L25) par méthode de diffusion sur milieu MRS

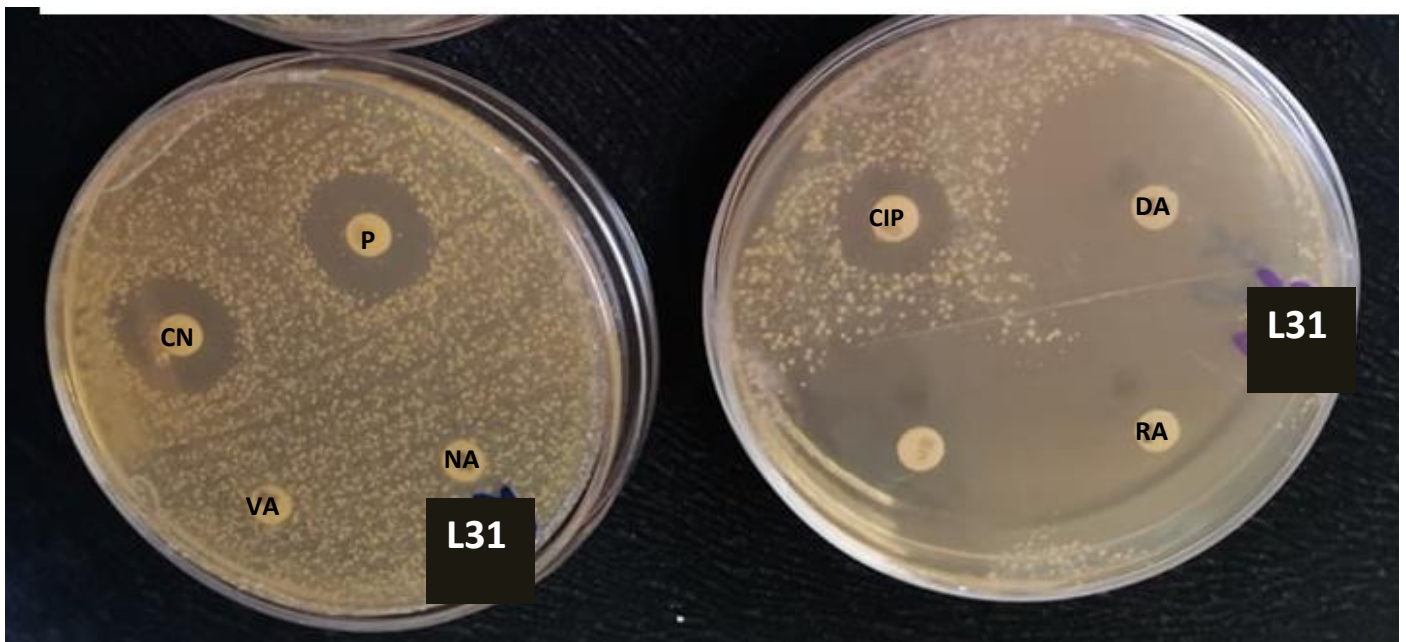


Figure 15: Effet des antibiotiques testés sur *L.salivarius* (L31) par méthode de diffusion sur milieu MRS

Résultats et discussion

Testore et al. (2002) ont rapporté que cinquante isolats de lactobacilles prélevés de 30 échantillons de col de l'utérus des femmes en bonne santé ont été testés pour sensibilité à 41 antibiotiques, il a été constaté que tous les isolats se sont avérés être sensible à l'imipénème donc, nos résultats sont en accord avec ces résultats.

Dans une étude réalisée par **Egervärn (2009)**, les membres de *L. reuteri* testés (n=56) étaient sensibles aux gentamicines et intrinsèquement résistants à la vancomycine. Les mêmes résultats sont obtenus dans notre étude.

La résistance et la sensibilité aux antibiotiques varient selon le type et la souche de lactobacilles. Ceci a été confirmé dans une étude réalisée par **Melkumyan et al. (2015)**. La différence remarquée dans la sensibilité aux antibiotiques entre les espèces de lactobacilles a été approuvée dans plusieurs études. Cette différence souligne l'importance du typage des lactobacilles pour évaluer le bon choix d'une antibiothérapie. Le regroupement des antibiotiques selon la résistance bactérienne *in vitro* permet de définir quel médicament est utilisé pour traiter les infections chez les femmes en âge de procréer, est le moins destructeur pour la microflore vaginale normale et, par conséquent, le meilleur choix pour préserver l'environnement vaginal. Tous les médicaments étaient actifs contre les lactobacilles et il est seulement possible d'indiquer ceux qui sont moins actifs ou ceux qui doivent être évités parce qu'ils sont trop actifs (par exemple, l'imipénem) (**Testore et al., 2009**).

De plus, même au sein des classes d'antibiotiques, il est possible de choisir entre des médicaments moins ou plus actifs. Dans notre contexte, en ce qui concerne la classe des quinolones, par exemple, acide nalidixique (100 % des isolats résistants) n'a aucun effet destructif donc il est mieux utilisé chez les femmes à la place de ciprofloxacine (100 % des isolats sensibles).

Il a été démontré que la clindamycine et le métronidazole sont des traitements efficaces pour la VB, mais leur efficacité peut être limitée par des effets négatifs sur la croissance de la microflore vaginale normale (**Simoès et al., 2001**). La clindamycine a suscité des inquiétudes particulières car elle a un spectre d'activité *in vitro* qui couvre les lactobacilles (**Bayer et al., 1978**). Cependant, des études portant à la fois sur la clindamycine et le métronidazole suggèrent que des concentrations élevées de ces médicaments, telles que celles obtenues avec un traitement intravaginal pour la VB, peuvent inhiber la croissance des espèces de *Lactobacillus* (**Aroutcheva et al., 2001 ; Simoès et al., 2001**).

Résultats et discussion

Il a été rapporté que des souches développent une résistance intrinsèque aux antibiotiques pourraient être utiles et pouvant être administrées avec des antibiotiques pour restaurer son habitat après un traitement antibiotique (**Cebeci et Gürakan, 2003 ; Gueimonde et al., 2013**). Ainsi, il a été observé que le microbiote pouvait se régénérer en un temps plus court (**Cebeci et Gürakan, 2003**).

Bechelaghem (2017), a également isolé 23 isolats de *Lactobacillus* du vagin de femmes en bonne santé et étudié les effets des antibiotiques sur les 9 isolats sélectionnés de *Lactobacillus* et trouvé tous les isolats résistants au métronidazole qui est le plus couramment utilisés pour le traitement de la vaginose bactérienne. Ces résultats suggèrent que des souches sélectionnées pourraient être utilisées pour la restauration du microbiote vaginal avec le traitement antimicrobien de la vaginose bactérienne ces isolats aussi résistants à l'acide nalidixique, vancomycine et kanamycine qui aide à la sélection des probiotiques proposés doit être pris par les patients pendant le traitement antimicrobien.

Préserver l'écosystème humain normal, même lorsqu'un traitement antibiotique est nécessaire, reste un objectif pour le microbiologiste et le clinicien, et une meilleure connaissance de la microflore normale et de sa sensibilité aux antibiotiques est nécessaire (**Testore et al., 2009**).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a été mené dans le cadre de valider *in vitro* l'impact des antibiotiques sur la population des lactobacilles vaginaux chez la femme spécifiquement les deux espèces (*L.reuteri* et *L.salivarius*) dominées dans notre région à l'ouest d'Algérie. Pour cela, nous avons tout d'abord procédé à la réactivation des 27 isolats de lactobacilles conservés à -50°C dans le milieu MRS. Ces isolats ont été déjà isolés à partir des femmes saines et en âge de reproduction puis identifiés phénotypiquement et génotypiquement dans une étude précédente. Ensuite, nous avons réalisé des tests de confirmation (coloration de Gram et recherche de la catalase). Afin de tester l'effet des neuf antibiotiques sur les 27 isolats de *Lactobacillus nous avons* effectué une méthode de diffusion sur disques en gélose MRS.

D'après les résultats et après les tests de confirmation réalisés nous avons confirmé que tous nos isolats (24 *L.reuteri* et 03 *L.salivarius*) sont à coloration de Gram positive et catalase négative. L'effet des 9 antibiotiques sur ces deux espèces étudiées sur gélose MRS montre une sensibilité variable vis-à-vis ces antibiotiques. Les deux espèces sont sensibles aux antibiotiques (P, RA, CN, C, CIP, DA et IPM « testé seulement sur *L.reuteri* ») et résistants aux VA et AN.

Presque tous les antibiotiques utilisés étaient actifs contre les lactobacilles. Les plus grandes zones d'inhibition remarquées par l'antibiotique IPM arrivés jusqu'au 54 mm de diamètre sur *L.reuteri* (L1 et L21), ce qui montre que cet ATB est trop actif donc doit être évité parce que son utilisation va éradiquer le microbiote vaginal.

Concernant les antibiotiques DA, C et RA ont aussi un effet remarquable avec des zones d'inhibition entre (30-46mm) par contre P, CIP et CN sont peu actifs avec des zones entre (15mm-30mm) ces derniers peuvent favoriser une diminution du nombre de lactobacilles dans le vagin.

De plus, même au sein des classes d'antibiotiques, il est possible de choisir entre des médicaments moins ou plus actifs. Dans notre contexte, en ce qui concerne la classe des quinolones, par exemple, l'acide nalidixique (100 % des isolats résistants) n'a aucun effet destructif donc il est mieux utilisé chez les femmes à la place de ciprofloxacine (100 % des isolats sensibles).

Conclusion

Selon les données obtenues dans cette étude on peut conclure que la thérapie par vancomycine et acide nalidixique n'affecte pas les isolats de *L.reuteuri* et *L.salivarius* dans le vagin.

En perspective, nos travaux méritent d'être consolidés par l'utilisation de différentes classes d'antibiotiques, dans chaque classe plusieurs types d'antibiotiques même ceux prescrits pour traiter d'autres infections autre que gynécologiques afin de choisir les moins actifs au sein d'une même classe.

La sensibilité variable des espèces de lactobacilles vaginaux (dans notre cas *L.reuteri* et *L.salivarius*) doit être prise en compte lors du choix des schémas de traitement antibactérien. Cependant ce choix aide à préserver la santé de l'écosystème vaginale en respectant les lactobacilles comme étant l'une des bactéries probiotiques.

Références
bibliographiques

- **Ahn, KB** Baik JE, Park O-J, Yun C-H, Han SH. 2018. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. PLoS ONE. 13:e0192694.
- **Al Baghdadi**, O., Ewies, A.A.A. 2009, Topical estrogen therapy in the management of postmenopausal vaginal atrophy: An up-to-date overview. Climacteric, 12 (2): 91-105.
- **Alakomi**, H.L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., Helander, I.M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. Appl Environ Microbiol, 66: 2001-5.
- **Alekshun**, MN ,and Levy ST. 2007. Molecular mechanism of antimicrobial multidrug resistance. Cell 128: 1037-1050.
- **Allonsius**, CN, van den Broek MFL, De Boeck I, Kiekens S, Oerlemans EFM Kiekens F, et al 2017. Interplay between *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Candida* and the involvement of exopolysaccharides. Microb Biotechnol. 10:1753–63.
- **Amabebe**, E. and Anumba DOC. 2018. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. Front. Med, 5:181.
- **Amouri**, I., Abbes, S., Sellami, H., Makni, F., Sellami, A., Ayadi, A. 2010. La candidose vulvovaginale: revue. Vulvovaginal candidiasis: A review. *J Med Mycology*, 20(2), 108-15.
- **Anderson**, DI ,and Hughes D. 2010. Antibiotic resistance and its cost: it is possible to reserve resistance?. Nat Rev Microbiol 8:260-2710.
- **Anderson**, DI, and Hughes D. 2012. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentration. Drug resistance updates 15: 162-172.
- **Andre**, G, Deghorain M, Bron PA, van Swam II, Kleerebezem M, Hols P, et al. 2011. Fluorescence and atomic force microscopy imaging of wall teichoic acids in *Lactobacillus plantarum*. ACS Chem Biol. 6:366–76.
- **Anonyme 1**. (2013). Gouvernement du Canada A de la santé publique du C. Pertes vaginales (vaginose bactérienne, candidose vulvo-vaginale, trichomonase) - Section 4 - Prise en charge et traitement de syndromes spécifiques - Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement – Agence de la santé publique du Canada.
- **Anukam**, K, Osazuwa E, Ahonkhai I, Ngwu M, Osemene G, Bruce AW, et al. 2006. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. Microbes Infect. 8:1450–4.

- **Aroutcheva A**, Simoes JA, Schott S, Faro S. The inhibitory effect of clindamycin on *Lactobacillus* in vitro. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001;9:239-44.
- **Badel ,S**, Bernardi T, 2011. Michaud P. New perspectives for lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnol Adv.* 29:54–66.
- **Bannatyne, R.**, Smith, A. 1998. Recurrent bacterial vaginosis and metronidazole resistance in *Gardnerella vaginalis*. *Sex Transm Infect*, 74, 455-662.
- **Bayer AS**, Chow AW, Concepcion N, Guze LB. Susceptibility of 40 lactobacilli to six antimicrobial agents with broad gram-positive anaerobic spectra. *Antimicrob Agent Chemother* 1978;14:720-2.
-
- **Bechelaghem ,N**, (2017). Etude des *Lactobacillus* vaginaux : Identification, effets protecteurs, facteurs de déséquilibre et moyens de régénérescence, thèse du doctorat Université de Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem-Algérie ; 84p.
-
- **Beigi, RH**, Austin MN, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL.2004. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* .191: 1124–9.
- **Bergogne-Bérézin, E.** 2007 Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. *Antibiotiques*, 44-139.
- **Berrebi, A.** and Ayoubi, J. 1999. Le déséquilibre de la flore vaginale. *Genesis : Gynecologie Obstétrique Endocrinologie*, 44,1-4.
- **Borges, S.**, Silva,J., Teixeira P. (2014). The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health.*Arch Gynecol Obstet*, 289, 479-89.
- **Boris, S.**, Barbes, C. 2000. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect*, 2:543-6.
- **Boris, S.**; Suárez, J.E.; Vázquez, F.; Barbés, C. 1998. Adherence of Human Vaginal Lactobacilli to Vaginal Epithelial Cells and Interaction with Uropathogens. *Infect. Immun.* 66, 1985–1989.
- **Bradshaw ,CS**, Brotman RM. 2015. Making inroads into improving treatment of bacterial vaginosis – striving for long-term cure. *BMC Infect Dis* .15: 292.
- **Bradshaw ,CS**, Morton AN, Hocking J, et al2006. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis*; 193: 1478–86.
- **Bradshaw, CS**, 2015.Brotman RM. Making inroads into improving treatment of bacterial vaginosis – striving for long-term cure. *BMC Infect Dis*; 15: 292.

- **Bron ,PA**, Tomita S, van Swam II, Remus DM, Meijerink M, Wels M, et al. 2012. *Lactobacillus plantarum* possesses the capability for wall teichoic acid backbone alditol switching. *Microb Cell Fact.* 11:123.
- **Carvalho A**, Giovannini G, De Luca A, D'Angelo C, Casagrande A, Iannitti RG, Ricci G, Cunha C, Roma- ni L. 2012 Dectin-1 isoforms contribute to distinct Th1/ Th17 cell activation in mucosal candidiasis. *Cell Mol Immunol .9:* 276-286.
- **Cebeci A**, Gürakan C. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiol.* 2003;20(5):511-518.
- **Chapot-Chartier M-P**, Kulakauskas S. 2014. Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microb Cell Fact.* 13:9.
- **Charteris ,WP**, Kelly PM, Morelli L, Collins JK.1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot;* 61: 1636–43.
- **Chee,W, J, Y , Shu Yih Chew and Leslie Thian Lung Than.** 2020 Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microb Cell Fact .19:*203.
- **Chen ,Z**, Zhang Z, Zhang H, Xie B. 2015 .Analysis of the oxidative stress status in nonspecific vaginitis and its role in vaginal epithelial cells apoptosis. *Biomed Res Int.* 795656.
- **Chen, C., Song, X., Wei, W., Zhong, H., Dai, J., Lan, Z., Li, F., Yu, X., Feng, Q., Wang, Z., et al. (2017).** The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases.*Nat. Commun, 8,* 875.
- **Courvalin, P.** 1994. Transfer of antibiotic resistance genes between Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 38(7):1447-51.
- **Cribby, S., Michelle, T., Gregor, R. (2008).** Vaginal Microbiota and the Use of Probiotics. *Hindawi Publishing Corporation,10- 9.*
- **Danielsen, M., Wind A.** 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *Int J Food Microbial,* 82(1), 1–11.
- **Dasari S,** 2019.Recent Findings of *Lactobacillus* Diversity and Their Functional Role in Vaginal Ecosystems. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry.* Pages 3-12/
- **Dasari, S., Naidu, R., Shouri, D., Wudayagiri, R. and Valluru, L.** 2014. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* against microbial flora of cervicovaginal infections. *Asian Pac J TropDis,* 4(1) : 18-24.

- **De Gregorio, PR**, Parolin C, Abruzzo A, Luppi B, Protti M, Mercolini L, et al. 2020. Biosurfactant from vaginal *Lactobacillus crispatus* BC1 as a promising agent to interfere with *Candida* adhesion. *Microb Cell Fact.* 19:133.
- **Dei, M.**, Di Maggio, F., Di Paolo, G., Bruni, V. 2010. Vulvovaginitis in childhood. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 24: 129-137.
- **Delcour J**, Thierry F, Deghorain M, 1999. Emmanuelle Palumbo & Pascal Hols The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 159–184.
- **Demain A**, and Sanchez S. 2009. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The journal of antibiotics* 62(1):5-16.
- **Di Paola, M.**, Sani, C., Clemente, A.M., Iossa, A., Perissi, E., Castronovo, G., Tanturli, M., Rivero, D., Cozzolino, F., Cavalieri, D., et al. (2017). Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection. *Sci. Rep.*, 7, 10200.
- **Döderlein, A.** (1894). Das Scheidensekret und seine Bedeutung für Puerperalheber. *ZbL. Bald.*, 11:699.
- **Donders, G.G.**, Bellen, G., Grinceviciene, S., Ruban, K., Vieira-Baptista, P. (2017). Aerobic vaginitis: No longer a stranger. *Res. Microbiol.*, 168:845-858
- **Donders, G.G.**, Vereecken, A., Bosmans, E., DeKeersmaecker, A., Salembier, G., Spitz, B. (2002). Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: Aerobic vaginitis. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.*, 109 : 34-43.
- **Donnarumma ,G**, Molinaro A, Cimini D, De Castro C, Valli V, De Gregorio V, et al. 2014 *Lactobacillus crispatus* L1: high cell density cultivation and exopolysaccharide structure characterization to highlight potentially beneficial effects against vaginal pathogens. *BMC Microbiol.*;14:137.
- **Duchêne M-C**, Rolain T, Knoop A, Courtin P, Chapot-Chartier M-P, Dufrene YF, et al. 2019. Distinct and specific role of NlpC/P60 endopeptidases LytA and LytB in cell elongation and division of *Lactobacillus plantarum*. *Front Microbiol.* 10:713.
- **Eade, C.R.**, Diaz, C., Wood, MP., et al. (2012) Identification and characterization of bacterial vaginosis-associated pathogens using a comprehensive cervical-vaginal epithelial coculture assay. *PLoS One*, 7: 501-06.
- **Edwards, PI.** 1993. Nitroimidazole drugs - action and resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother*; 31: 9-20.

- **Egervärn, M**, 2009. Antibiotic Resistance in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala..
- **Eschenbach, D. A.** 1993. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *Clin. Infect. Dis.* 16 Suppl 4:S282-S287.
- **Eschenbach, D. A., D. L. Patton., T. M. Hooton., A. S. Meier., A. Stapleton., J. Aura., and K. Agnew.** 2001. Effects of vaginal intercourse with and without a condom on vaginal flora and vaginal epithelium. *J. Infect. Dis.*, 183:913-918
- **Eschenbach, D. A., S. S. Thwin., D. L. Patton., T. M. Hooton., A. E. Stapleton., K. Agnew., C. Winter., A. Meier., and W. E. Stamm.** 2000. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora. *Clin. Infect. Dis.*, 30: 901-907.
- **Eschenbach, D.A., Davick, P.R., Williams, B.L., Klebanoff, S.J., Young Smith, K., Critchlow, C.M.** 1989. Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol*, 27, 251–256.
- **Felis, G. E., and F. Dellaglio.** 2007. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Curr. Iss. Intest. Microbiol*, 8:44-61.
- **Ferris ,DG, Litaker MS, Woodward L, Mathis D, Hendrich J**1995. Treatment of bacterial vaginosis: a comparison of oral metronidazole, metronidazole vaginal gel, and clindamycin vaginal cream. *J Fam Pract*; 41: 443–9.
- **Forsum, U., E. Holst., P. G. Larsson., A. Vasquez., T. Jakobsson., and I. Mattsby Baltzer.** (2005). Bacterial vaginosis - a microbiological and immunological enigma. *A. P. M. I. S.* 113:81-90.
- **Foschi C, Salvo M, Cevenini R, Parolin C, Vitali B, Marangoni A. .** 2017. Vaginal lactobacilli reduce *Neisseria gonorrhoeae* viability through multiple strategies: an *in vitro* study. *Front Cell Infect Microbiol.* 7:502.
- **François, D, Marie-Cécile Poly, Christian Martin, Edouard Bingen, Roland Quentin.** 2011. *Bactériologie médicale. 2ème édition.*
- **Freeman, CD, Klutman NE, Lamp KC.** 1997 Metronidazole. A therapeutic review and update. *Drugs*; 54: 679–708.
- **Goldstein, E.J.C., Tyrrell, K. L. and Citron, M.D.** 2015 *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60 (2), 98-107.
- **Guardabassi, L. & Courvalin, P.** (2006). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup, F.M. (Ed.) *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. Washington, DC, USA: ASM Press. pp. 1-18.

- **Gueimonde, M, Borja S, Clara G.** 2013. *de los Reyes-Gavilán and Abelardo Margolles.* Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in microbiology.* 4 :202-6.
- **Hajfarajollah H,** 2018. Eslami P, Mokhtarani B, Akbari Noghabi K. Biosurfactants from probiotic bacteria: a review. *Biotechnol Appl Biochem.* 65:768–83.
- **Hammes, W. P., and R. F. Vogel.** 1995. The genus *Lactobacillus*. In *The Genera of Lactic Acid Bacteria.* Wood, B.J. and W. H. Holzapel (Eds). Chapman & Hall, London, pp. 19-54.
- **Hardy, L,** Cerca N, Jaspers V, Vaneechoutte M, Crucitti T. 2017. Bacterial biofilms in the vagina. *Res Microbiol.* 168:865–74.
- **Hassan, AN,** Frank JF, Shalabi SI. 2001. Factors affecting capsule size and production by lactic acid bacteria used as dairy starter cultures. *Int J Food Microbiol.* 64:199–203.
- **Hawkey, PM.** 1998. The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *BMJ* 317(7159):657-60.
- **Hay, P.** 2009. Recurrent bacterial vaginosis. *Curr Opin Infect Dis;* 22: 82–6.
- **Haya, J., Africa, G., Carlos, L.M., Maher, B., Lara, H.** (2014). Importance of lactic acid in maintaining vaginal health: a review of vaginitis and vaginosis etiopathogenic bases and a proposal for a new treatment. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 4, 787-799.
- **Hillier, S., Holloway, M., Rabe, L.** 2000. Antimicrobial agent susceptibility of *Lactobacillus crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, and other *Lactobacillus* species. In: 39th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy, ASM's annual meeting on infectious diseases. American Society for Microbiology, Washington.
-
- **Hoang ,T,** Toler E, DeLong K, Mafunda NA, Bloom SM, Zierden HC, et al. 2020. The cervicovaginal mucus barrier to HIV-1 is diminished in bacterial vaginosis. *PLoS Pathog.* 16:e1008236.
- **Itapary Dos Santos, C,** Ramos Franca Y, Duarte Lima Campos C, Quaresma Bomfim MR, Oliveira Melo B, Assuncao Holanda R, et al. 2019 Antifungal and antivirulence activity of vaginal *Lactobacillus* spp. products against *Candida* vaginal isolates. *Pathogens.* 8:150.
- **Johnson ,K.** 2011. This depicts the site of action of some of the major categories of antibiotics. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibiotics_Mechanisms_of_action.png.
- **Jung, S,** Park O-J, Kim AR, Ahn KB, Lee D, Kum K-Y, et al. 2019. Lipoteichoic acids of lactobacilli inhibit *Enterococcus faecalis* biofilm formation and disrupt the preformed biofilm. *J Microbiol.* 57::310–15.
- **Kaambo, E., Africa, C., Chambuso, R., Passmore, J.-A.S.** (2018). Vaginal Microbiomes Associated With Aerobic Vaginitis and Bacterial Vaginosis. *Front. Public Health* ,6, 78.

- **Kaewsrichan, J.**, Peeyananjarassri, K. & Kongprasertkit, J. (2006). Selection and identification of anaerobic lactobacilli producing inhibitory compounds against vaginal pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 48, 75–83.
- **Kerry, RG**, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin H-S, Das G. 2018. Benefaction of probiotics for human health: a review. *J Food Drug Anal.* 26:927–39.
- **Kissinger, P**, 2018Muzny CA, Mena LA, et al. Single-dose versus 7-day-dose metronidazole for the treatment of trichomoniasis in women: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*; 18: 1251–9.
- **Knupp de Souza, DM**, Diniz CG, Filho DSC, et al.2016. Antimicrobial susceptibility and vaginolysin in *Gardnerella vaginalis* from healthy and bacterial vaginosis diagnosed women. *J Infect Dev Ctries*; 10: 913–9.
- **Kovachev, S.** 2018 Defence factors of vaginal lactobacilli. *Crit. Rev. Microbiol.* 44, 31–39.
- **Laiño, J**, Villena J, Kanmani P, Kitazawa H. 2016. Immunoregulatory effects triggered by lactic acid bacteria exopolysaccharides: new insights into molecular interactions with host cells. *Microorganisms.* 4:27.
- **Lebeer S**, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. 2008. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev.* 72:728–64.
- **Lebeer,S**, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. 2010. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol.*;8:171–84.
- **Leyva-Gómez, G.**, María, L., Del. Prado-Audelo., Silvestre. Ortega-Peña., Néstor. Mendoza-Muñoz., Zaida. Urbán-Morlán., Maykel. González-Torres., Manuel. Gonzá lez-Del. Carmen., Gabriela. Figueroa-González., Octavio, D. Reyes-Hernández and Hernán, Cortés. (2019). Modifications in Vaginal Microbiota and Their Influence on Drug Release: Challenges and Opportunities. *Journal pharmaceutics*, 11, 217.
- **Liu ,Z**, Zhang Z, Qiu L, Zhang F, Xu X, Wei H, et al. 2017.Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *J Dairy Sci.* 100:6895–905
- **Liu Y**, Perez J, Hammer LA, Gallagher HC, De Jesus M, Egilmez NK, et al .2018. Intravaginal administration of interleukin 12 during genital gonococcal infection in mice induces immunity to heterologous strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *mSphere.* 3:e00421-17.

- **Machado ,D**, Castro J, Palmeira-de-Oliveira A, Martinez-de-Oliveira J, Cerca N. 2016 Bacterial vaginosis biofilms: challenges to current therapie and emerging solutions. *Front Microbiol.* 6:1528.
- **Marie-Pierre** Chapot-Chartier, SauliusKulakauskas. Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *MicrobialCellFactories* 2014, 13(Suppl 1):S9.
- **Marion, M.** 2018 Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l’officine. *Sciences pharmaceutiques.* dumas,01962203.
- **Masson ,L**, Barnabas S, Deese J, Lennard K, Dabee S, Gamiieldien H, et al. 2019. Inflammatory cytokine biomarkers of asymptomatic sexually transmitted infections and vaginal dysbiosis: a multicentre validation study. *Sex Transm Infect.* 95:5–12.
- **Mastromarino ,P** ,Cacciotti F, Masci A, Mosca L. 2011. Antiviral activity of *Lactobacillus brevis* towards herpes simplex virus type 2: role of cell wall associated components. *Anaerobe.* 17:334–6.
- **Meade KG**, O’Farrelly C. . 2019 β -defensins: Farming the microbiome for homeostasis and health. *Front Immunol.* 9:3072
- **Melkumyan ,AR**, Priputnevich TV, Ankirskaya AS, Murav’eva VV, Lubasovskaya LA. 2015. Effects of antibiotic treatment on the *Lactobacillus* composition of vaginal microbiota. *Bull Exp Biol Med* 158: 766–8.
- **Menard, J.P.** (2011). Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: Current and emerging therapies. *International Journal of Women’s Health*, 3: 295-305.
- **Mendes-Soares, H.**, Suzuki, H., Hickey, R.J., Forney, L.J. (2014). Comparative functional genomics of *Lactobacillus* spp. reveals possible mechanisms for specialization of vaginal lactobacilli to their environment.*J Bacteriol*,196:1458-70.
- **Mitchell C**, 2014 Marrazzo J. Bacterial vaginosis and the cervicovaginal immune response. *Am J Reprod Immunol* 71: 555-563.
- **Morais, IMC**, Cordeiro AL, Teixeira GS, Domingues VS, Nardi RMD, Monteiro AS, et al. 2017. Biological and physicochemical properties of biosurfactants produced by *Lactobacillus jensenii* P6A and *Lactobacillus gasseri* P65. *Microb Cell Fact*16:155.
- **Neu, HC.** 1992. The crisis of antibiotic resistance. *Science* 257:1064-1073.
- **Nikaido ,H.** 2009. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review Biochemistry* 78:119-146.

- **O’Hanlon, D.E., Moench, T.R., Cone, R.A.** 2013. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One*; 8:80074.
- **Ocaña, V., Clara, S., and Nader Macias, M.E.** 2006. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic vaginal lactobacilli. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, Article ID 18182, 1-6.
- **Ojala, T., Kankainen, M., Castro, J., Cerca, N., Edelman, S., Westerlund- Wikstrom B, et al.** (2014). Comparative genomics of *Lactobacillus crispatus* suggests novel mechanisms for the competitive exclusion of *Gardnerella vaginalis*. *BMC Genom*, 15:1070.
- **Ojo, KK, Ruehlen NL, Close NS, Luis H, Bernardo M, Leitao J, Roberts MC.** 2006. The presence of a conjugative Gram-positive Tn2009 in Gram-negative commensal bacteria. *J Antimicrob Chemother* 57(6):1065-9.
- **Paavonen ,J, Mangioni C, Martin MA, Wajszczuk CP.** 2000. Vaginal clindamycin and oral metronidazole for bacterial vaginosis: a randomized trial. *Obstet Gynecol* .96: 256–60.
- **Patten, DA, Laws AP.** 2015. *Lactobacillus*-produced exopolysaccharides and their potential health benefits: a review. *Benef Microbes*. 6:457–71.
- **Paul, De V., George, M. G, Dorothy, J., Noel. R.K., Wolfgang, L., Fred, A. R., Karl-Heinz, S. and William, B.W.** 2009. *Bergey’s manual of systematic bacteriology*. 2nd edition. Volume Three. The Firmicutes. University of Georgia Athens, GA 30602-2605 USA.
- **Pericolini ,E, Perito S, Castagnoli A, Gabrielli E, Mencacci A, Blasi E, et al.** 2018. Epitope unmasking in vulvovaginal candidiasis is associated with hyphal growth and neutrophilic infiltration. *PLoS ONE*. 13:e0201436.
- **Pirotta, M, Gunn J, Chondros P, et al.**2004. Effect of lactobacillus in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ*; 329: 548.
- **Pirotta, M.V., Garland, S.M.** 2006. Genital *Candida* species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. *J Clin Microbiol*, 44(9), 3213-7.
- **Poole, J, Day CJ, von Itzstein M, Paton JC, Jennings MP.** 2018. Glycointeractions in bacterial pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 16:440–52.
- **Pramanick, R.; Mayadeo, N.; Warke, H.; Begum, S.; Aich, P.; Aranha, C.** 2019 . Vaginal microbiota of asymptomatic bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: Are they different from normal microbiota? *Microb. Pathog.* 134, 103599.
- **Priestley, C. J., B. M. Jones, J. Dhar, and L. Goodwin.** 1997. What is normal vaginal flora? *Genitourin. Med*, 73:23-28.
- **Rahal, K.** 2005. Standardisation de l’antibiogramme en médecine humaine. 4ème édition.

- **Ran, G., Mladenovi, V.** 2012. Microbiological aspects of vulvovaginitis in prepubertal girls. *Eur. J. Pediatr*, 171: 1203-1208.
- **Redondo-Lopez, V., R. L. Cook., and J. D. Sobel.** (1990). Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev. Infect. Dis*, 12:856-872.
- **Reichman ,O, Sobel J.** 2014 Desquamative inflammatory vaginitis. *Best Pract Rees Clin Obstet Gynecol*; 28: 1042–50.
- **Reid, G. et al.** (2011). Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol*, 9, 27–38.
- **Rios-Covian ,D, Cuesta I, Alvarez-Buylla JR, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M de. Los Reyes-Gavilán CG.** 2016. *Bacteroides fragilis* metabolises exopolysaccharides produced by bifidobacteria. *BMC Microbiol*. 16:150.
- **Rodrigues, L, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R.** 2006 Biosurfactants: potential applications in medicine. *J Antimicrob Chemother*. 57:609–18.
- **Ruas-Madiedo P, Medrano M, Salazar N, De Los Reyes-Gavilán CG, Pérez PF, Abraham AG.** 2010. Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains abrogate *in vitro* the cytotoxic effect of bacterial toxins on eukaryotic cells. *J Appl Microbiol*. 109::2079–86.
- **Salazar, N, Gueimonde M, de los Reyes-Gavilán CG, Ruas-Madiedo P.** 2016. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and bifidobacteria as fermentable substrates by the intestinal microbiota. *Crit Rev Food Sci Nutr*.56:1440–53.
- **Salyers, AA, Gupta A, Wang Y.** 2004. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol* 12(9):412-6.
- **Sanders ME,** 2018. Benson A, Lebeer S, Merenstein DJ, Klaenhammer TR. Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims. *Curr Opin Biotechnol*. 49:207–16.
- **Sanders, ME,** 2019 .Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 16:605–16.
- **Schwebke, J. R., C. M. Richey, and H. L. Weiss.** 1999. Correlation of behaviors with microbiological changes in vaginal flora. *J. Infect. Dis*, 180:1632-1636.
- **Shida K, Kiyoshima-Shibata J, Kaji R, Nagaoka M, Nanno M.** 2009. Peptidoglycan from lactobacilli inhibits interleukin-12 production by macrophages induced by *Lactobacillus casei* through Toll-like receptor 2-dependent and independent mechanisms. *Immunology*.128:e858-69.

- **Simoës JA**, Aroutcheva AA, Schott S, Faro S. 2001. Effect of metronidazole on the growth of vaginal lactobacilli in vitro. *Infect Dis Obstet Gynecol*;9:41-5.
- **Skarin, A.**, and J. Sylwan. 1986. Vaginal lactobacilli inhibiting growth of *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* and other bacterial species cultured from vaginal content of women with bacterial vaginosis. *Acta. Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.B*, 94:399-403.
- **Sobel, J.D.** 2007. Vulvovaginal candidosis, *The Lancet*, 369: 1961-1971.
- **Sobel, JD.** 1994. Desquamative inflammatoire vaginitis: a new subgroup of purulent vaginitis responsive to topical 2% clindamycin therapy. *Am J Obstet Gynecol* 171: 121520.
- **Song, J** Lang F, Zhao N, Guo Y, Zhang H. 2018. Vaginal lactobacilli induce differentiation of monocytic precursors toward Langerhans-like cells: *in vitro* evidence. *Front Immunol.* 9:2437.
- **Spiegel, C. A.**, R. Amsel., D. Eschenbach., F. Schoenkecht., and K. K. Holmes. 1980. Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. *N. Engl. J. Med*, 303:601-607.
- **Spinillo, A.**, Capuzzo, E., Acciano, S., De Santolo, A., Zara, F. (1999). Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 180:14-7.
- **Spurbeck ,RR**, Arvidson CG. 2012. *Lactobacillus gasseri* surface-associated proteins inhibit *Neisseria gonorrhoeae* adherence to epithelial cells. *Infect Immun.* 80:3743.
- **Spurbeck RR**, Arvidson CG. 2011. Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiol.*;6:567–82.
- **Stokes, HW** and ,Gillings MR. 2011. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiol Review* 35: 790-819.
- **Stone, A.** 2002. Microbicides: a new approach to preventing HIV and other sexually transmitted infections. *Nature Rev*, 1:977-985.
- **Sudbery ,PE.** 2011. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nat Rev Microbiol.*9:737.
- **Tempera, G.**, Abbadessa, G., Bonfiglio, G., Cammarata, E., Cianci, A., Corsello, S., Raimondi, A., Ettore, G., Nicolosi, D., Furneri, P.M. (2006). Topical Kanamycin: An Effective Therapeutic Option in Aerobic Vaginitis Topical. *J. Chemoterapy*,18 :409-414.
- **Testore, GP**, Sarrecchia, C., Zupi, E., Sordilo, P., Valli, E., Bove, F., and Andreon, M. 2002. Antibiotic susceptibility of lactobacilli isolated from the cervix of healthy women. *Microbial. Ecology in Health and Disease.*14(1):14-18.
- **Testore, Gian Piero**, Cesare Sarrecchia, Edoardo Zupi, Pasquale Sordillo, Edoardo Valli, Fernanda Bove & Massimo Andreoni. (2009). Antibiotic Susceptibility of Lactobacilli

- Isolated from the Cervix of Healthy Women. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2002; 14: 14–18
- **Tomita, S**, Irisawa T, Tanaka N, Nukada T, Satoh E, Uchimura T, et al. 2010 Comparison of components and synthesis genes of cell wall teichoic acid among *Lactobacillus plantarum* strains. *Biosci Biotechnol Biochem*. 74:928–33.
 - **Torcia, MG**. 2019. Interplay among vaginal microbiome, immune response and sexually transmitted viral infections. *Int J Mol Sci*. 20:266.
 - **Van Hamme, JD**, Singh A, Ward OP. 2006. Physiological aspects. Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnol Adv.*;24:604–20.
 - **Van Hoek ,AHAM**, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, and Aarts HJM. 2011. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in Microbiology* 203:1-27.
 - **Verstraelen, H**, Verhelst R. 2009. Bacterial vaginosis: an update on diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* .7: 1109–24.
 - **Vidal, K**, Donnet-Hughes A, Granato D. 2002. Lipoteichoic acids from *Lactobacillus johnsonii* strain La1 and *Lactobacillus acidophilus* strain La10 antagonize the responsiveness of human intestinal epithelial HT29 cells to lipopolysaccharide and gram-negative bacteria. *Infect Immun*70::2057–64.
 - **VILLA ,et al** ; 2020. The interplay between immune system and microbiota in gynecological diseases: a narrative review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*; 24: 5676-5690.
 - **Wenzel, RP**. 2004. The antibiotic pipeline – Challenges, costs and values. *New England Journal of Medicine* 351: 523-526.
 - **Wilk,s, M.**; Wiggins, R.; Whiley, A.; Hennessy, E.; Warwick, S.; Porter, H.; Corfield, A.; Millar, M. 2004. Identification and H2O2 Production of Vaginal Lactobacilli from Pregnant Women at High Risk of Preterm Birth and Relation with Outcome. *J. Clin. Microbiol*. 42, 713–717.
 - **Wilks, M.**, and S. Tabaqchali. 1987. Quantitative bacteriology of the vaginal flora during the menstrual cycle. *J. Med. Microbiol*. 24:241-245.
 - **Wira CR**, 2005. Fahey JV, Sentman CL, Pioli PA, Shen L. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immu- nol Rev* .206: 306-335.
 - **Wise R**. 2002. Antimicrobial resistance: Priorities for action. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 49(4):585-586.
 - **Witkin, S. S.**, I. M. Linhares, and P. Giraldo. 2007. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol*. 21:347-354.

- **Witkin, S.S.**; Mendes-Soares, H.; Linhares, I.M.; Jayaram, A.; Ledger, W.J.; Forney, L.J. 2013. Influence of Vaginal Bacteria and d- and l-Lactic Acid Isomers on Vaginal Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer: Implications for Protection against Upper Genital Tract Infections. *mBio*, 4, 00460-13.
- **Workowski, KA**, Bolan GA. 2015 STD treatment guidelines. *Cent Dis Control Prev - Morb Moral Wkly Rep* 64: 140.
- **Yamamoto, T.**, Zhou, X., Williams, C.J., Hochwalt, A., Forney, L.J. 2009. Bacterial Populations in the Vaginas of Healthy Adolescent Women. *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* 22, 11-18.
- **Younes, J.A.**; Van Der Mei, H.C.; Heuvel, E.V.D.; Busscher, H.J.; Reid, G. 2012. Adhesion Forces and Coaggregation between Vaginal Staphylococci and Lactobacilli. *PLoS ONE*. 7, e36917.
- **Zeng, Z.**; Zuo, F.; Marcotte, H. 2019. Putative Adhesion Factors in Vaginal *Lactobacillus gasseri* DSM 14869: Functional Characterization. *Appl. Environ. Microbiol.* 85, 00800-19.
- **Zhang ,L**, Liu C, Li D, Zhao Y, Zhang X, Zeng X, et al. 2013. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *Int J Biol Macromol.* 54:270–5.

Annexe



Composition du milieu liquide et solide utilisés

MRS Bouillon (MRSB) (g/l)

Peptone de caséine	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Hydrogénophosphate dipotassique.....	2g
Tween 80	1g
Hydrogénocitrate di-ammonium	2g
Acétate de sodium	5g
Sulfate de magnésium.....	0.2g
Sulfate de manganèse.....	0.04g
Eau distillée.....	1000ml

pH =6,5±0,1

MRS Agar (MRSB) (g/l)

Peptone de caséine	10g
Extrait de viande.....	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Hydrogénophosphate dipotassique	2g
Tween 80	1g
Hydrogénocitrate di-ammonium.....	2g
Acétate de sodium	5g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Sulfate de manganèse	0,04g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000 ml

pH =6,5±0,1