



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem**  
**Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie**  
**Département de Biologie**



**UNIVERSITE**  
**Abdelhamid Ibn Badis**  
**MOSTAGANEM**

# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

## MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

Par

**MEBARKI Hemissia**

**&**

**HENNI Senia**

Thème :

### Etude *in vitro* de l'activité antimicrobienne des lactobacilles vaginaux d'origine humaine contre des germes causant des infections génitales chez la femme.

Soutenue le 20/06/2024 devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>DJIBAOUI Rachid</b>	<b>Professeur</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>BECHELACHEM Nadia</b>	<b>MCA</b>	<b>ESA de Mostaganem</b>
<b>Examinateur</b>	<b>ARABI Abed</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2023/2024**

# *Remerciements*

*En tout premier lieu, nous remercions Allah « الحمد لله »  
« qui nous a donné la patience et le courage afin que nous réussissions à accomplir ce travail.*

*Nous exprimons notre plus profond gratitude à notre encadrent Madame **BECHELACHEM Nadia** pour ça grande disponibilité et pour la confiance qu'elle nous accordé tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous la remercions pour leur encouragement et ses connaissances dont elle nous à fait bénéficier.*

*Nos remerciements le plus sincères s'adressent à **Mr AIT Saada Djamal** d'avoir accepté pratiquée dans son laboratoire.*

*Nous remercions **Mr Benbouziane Djillali** Responsable du laboratoire de Microbiologie qui a collaboré sans hésitations à ce ce travail en offrant généreusement ses conseils et orientations.*

*Nos chaleureux remerciements vont également au laborantin **BEL Hadje Amine** responsables de service de Bactériologie dans le laboratoire de **Dr Chaibedraa** pour son aide et son soutien moral ainsi pour ses judicieux conseils.*

*Nous tenons aussi à remercier **Mm Djahira** pour leur aide pratiques et leur encouragement et leur gentillesse.*

*Nous exprimons toute notre reconnaissance à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.*

# *Dédicaces*

*Avant tout, je dois remercier Dieu le tout puissant qui m'a donné l'envie et la force pour mener à terminer ce travail.*

*الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات*

*Je dédie ce travail :*

*A mon père, mon soutien dans se monde après Dieu et mon pilier dans la vie.*

*A ma mère la lumière de ma vie et ma force dans les moments de détresse.*

*Que Dieu prolonge leurs vies.*

*A mes yeux, mes sœurs bien-aimées, Aya et Kawter. Que Dieu les protèges.*

*Au bien-aimé de mon cœur, mon petit frère Abd el ghani.*

*La cerise sur le gâteau C'est ma collègue, ma sœur et amie proche, Senia.*

*A mon grand-père et ma grand-mère qui mon comblé de leurs prières.*

*Et bien sur, A mon amie que j'ai trouvé a mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments Benkredda Badr Eddine.*

*Hemissia Ahlem.*

# *Dédicaces*

*A ma mère, la lumière de ma vie, la source de mes efforts. Tu représentes pour moi le symbole la femme forte et courageuse, tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études surtout pour moi, c'est grâce à toi que j'en suis là aujourd'hui.*

*Je voudrais te Remercier pour ton amour inconditionnel, pour ta patience et surtout pour tous les sacrifices que tu as consentis pour moi.*

*A mon père, merci pour tous les sacrifices et ton soutien indéfectibles durant tout ma vie grâce à toi j'ai appris le sens de responsabilité.*

*Mama et papa merci pour la confiance que vous m'avez accordé. Que ce travail soit pour vous une source de fierté et un témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.*

*A ma seule sœur, les mots ne suffisent pas pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi. Merci d'être toujours à mes coté dans toutes les situations que j'ai traversées, ton aide et ton soutien. Que dieu illumine pour toi la voie du succès et de la réussite dans tes études et ton travail futur manipulatrice.*

*A mon petit frère, merci pour tout le soutien et les encouragements qui m'ont immergée. Que dieu te protège et te guider vers la réussite dans tes études.*

*A la mémoire de mon grand père, qui m'a toujours motivé dans mes études, je dédié aujourd'hui ma réussite. Tes souvenirs restent gravés dans mon cœur, pour moi tu étais le grand père idéal.*

*A mon oncle, le personne qui m'inspire, merci pour ton aide et ton soutiens infailible à chaque fois que je m'adresse à toi. Je me considère chanceuse d'avoir un oncle tel que toi, que dieu te protège.*

*A ma grande mère, la meilleur mima merci pour ton amour que te  
ma donné toujours. Que dieu te protège.*

*A ma binôme, ensemble nous avons pu surmonter pleins d'obstacles, je  
tiens à te remercier pour ton amour et ton support dans tous les  
moments.*

*A MEBARKI aya, merci pour ton encouragement, plâin de réussite  
dans tes études.*

*Et enfin merci à tous mes amis, enseignants et aux personnes qui  
m'ont aidé et encouragement tout au long de mon parcours.*

*Senia.*

## ملخص

فلورا Döderlein و منذ اكتشافها على أنها الفلورا الطبيعية المهيمنة على النظام البيئي المهبلية و المتكونة من بكتيريا *Lactobacillus* و هي تعتبر العنصر الأهم للمحافظة على توازن هذا الوسط و حمايته من اختلال التوازن المهبلية و الأمراض الناتجة عنه مثل vaginite ,الالتهاب المهبلية ,داء المبيضات المهبلية و الأمراض المنتقلة جنسيا وذلك بواسطة عدة آليات و ميكانيزمات دفاعية مثل حمض اللاكتيك , الماء الاكسجيني و البكتيريوسينات مما دفع المجتمع العلمي إلى تطوير استخدام هذه البكتيريا كبروبيوتيك أو بستيبيوتيك و غيرها لاستخدامها من اجل الوقاية أو كعلاج مكمل في حالة الإصابة.

الهدف من دراستنا هو اجراء اختبار التضاد لبكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من مهبل نساء سليمة في سن الانجاب ضد البكتيريا المسببة للأمراض المهبلية.

أجريت هذه الدراسة على 8 عزلات من الجنس *Lactobacillus* من 7 نساء سليمة حددت هذه العزلات بطرق مظهرية حيث تشاركت في خصائص و هي الخصائص العامة للجنس *Lactobacillus* و اختلفت في أخرى و هي الخصائص المميزة للنوع ، قمنا فيما يلي بدراسة التضاد لبكتيريا حمض اللاكتيك ضد مجموعة من البكتيريا المسببة للأمراض المهبلية مثل *Serratia fonticola* , *Serratia marcescens* و *Escherichia coli* و خميرة *Candida albicans* .

أظهرت هذه الدراسة أن العزلة 5 تملك القدرة على تضاد الميكروبات الممرضة المدروسة. و التي بينت نتائج مقاربة مع السلالة بروبيوتيك LGG.

بناء على النتائج المتحصل عليها، يمكن اختيار العزلة 5 كونها تملك تأثير يناسب الاستخدام كعلاج أو مكمل علاجي للفلورا المهبلية شريطة تسليط المزيد من الدراسات المتقدمة عليها قبل اختتامها بالدراسة السريرية.

**الكلمات الرئيسية:** بكتيريا حمض اللاكتيك المهبلية , اختلال التوازن المهبلية *Lactobacillus* , التضاد البروبيوتيك , بستيبيوتيك , التوازن المهبلية.

## Résumé

La flore de Döderlein et depuis qu'elle a été découverte en tant que flore normale de l'écosystème vaginal représenté par le genre *Lactobacillus*, qui joue un rôle très important pour maintenir l'eubiose vaginale et de le protéger de la dysbiose qui a dû à des infections vaginales comme la vaginite, la vaginose, la candidose vaginale et des infections sexuellement transmissibles par plusieurs mécanismes de défense telle que la production d'acide lactique, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les bactériocines ce qui a incité la communauté scientifique à développer l'utilisation de ces bactéries amicales comme probiotiques ou postbiotiques.

Le but de notre étude est de tester *in vitro* l'effet antimicrobien des *Lactobacillus* d'origine humaine, isolé des vagins des femmes saines en âge de reproduction contre les germes causant des infections génitales.

Dans cette étude 8 isolats de *Lactobacillus* ont été prélevés auprès de 7 femmes saines et identifiés par des tests phénotypiques dont ces isolats ont des caractéristiques communes qui sont les caractères généraux des lactobacilles, et des caractères différents qui sont les caractères spécifiques à l'espèce. Enfin le test d'antagonisme vis-à-vis quatre germes pathogènes causant des infections génitales telle que *Serratia marcescens*, *Serratia fonticola* et *Escherichia coli* et la levure *Candida albicans* a été réalisé.

D'après les résultats un meilleur effet antagoniste a été détecté chez l'isolat 5 contre les 4 germes infectieux testés où elle possède un effet proche de celle de la souche probiotique LGG. Donc, cet isolat peut être choisi comme une souche performante, mais il reste nécessaire de réaliser d'autres études hautement standardisées pour la sélectionner comme probiotique vaginal.

**Les mots clés :** Lactobacilles *vaginaux*, dysbiose vaginal, antagonisme, probiotiques, postbiotiques, eubiose.

## Abstract

The Döderlein flora and since it was discovered as the dominant flora in vaginal ecosystem, represented by the genus *Lactobacillus* that play an important role for maintaining vaginal eubiosis and protect it from dysbiosis, which is due to genital infections such as vaginitis, bacterial vaginosis, vaginal candidiasis and sexually transmitted infections, by multiple defense mechanisms such as lactic acid production, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and bacteriocin production which stimulate the scientific community to develop the use of these friendly bacteria as probiotics or postbiotics.

The aim of our study is to test *in vitro* the antimicrobial effect of *Lactobacillus* from human origin, isolated from the vagina of healthy women of reproductive age, against germs causing genital infections.

In this study, 8 isolates of *Lactobacillus* were collected from 7 healthy women and identified by phenotypic tests. These isolates have common characteristics, which are the general characteristics of lactobacilli, and different characteristics, which are the characteristics specific to the species. The isolates were then tested for antagonism to four germs causing genital infections, including *Serratia marcescens*, *Serratia fonticola* and *Escherichia coli* and also the *Candida albicans* yeast.

A better antagonistic effect was detected in isolate 5 against the 4 infectious germs tested, and its effect was close to that of the LGG probiotic strain. This isolate can therefore be chosen as a high-performance strain, but further highly standardised studies are still needed to select it as a vaginal probiotic.

**Key words:** Vaginal lactobacilli, vaginal dysbiosis, antagonism, probiotics, postbiotics, eubiosis.

# ***Table des Matières***

# *Table des Matières*

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction.....	1

## *Partie bibliographique*

### *Premier chapitre : Écosystème vaginal et Lactobacillus*

I.1 Historique de la flore vaginale.....	3
I.2 Écosystème vaginal.....	3
I.2.1 Anatomie de l'appareil génital féminin .....	3
I.2.2 Épithélium vaginal.....	4
I.2.3 Microbiote vaginale.....	4
I.2.4 Interaction microorganismes –hôte.....	5
I.3 Evolution du microbiote vaginal .....	6
I.4 La classification actuelle des lactobacilles.....	7
I.5 Score de Nugent méthode d'évaluation de la santé vaginale.....	9
I.6 Rôle protecteur des lactobacilles vaginaux.....	10
I.6.1 Inhibition de la croissance du pathogène.....	10
1.6.1.1. Production de peroxyde d'hydrogène .....	10
1.6.1.2. Production d'acide lactique.....	11
1.6.1.3production des bactériocines .....	11
1.6.1.4. Compétition vis-à vis des nutriments .....	12
I.6.2 Inhibition de l'adhésion du pathogène.....	12
1.6.2.1. Adhésion aux cellules épithéliales vaginales.....	12
1.6.2.2. Adhésion à la fibronectine humaine.....	12
1.6.2.3. Production des biosurfactants.....	12

## **Deuxième chapitre : Eubiose et dysbiose vaginale**

II.1. L'eubiose vaginale .....	15
II.2 Définition des probiotiques .....	15
II.3 Historique des probiotiques .....	15
II.4 Effet bénéfique des probiotiques .....	15
II.5 Les critères de sélection des souches probiotiques .....	16
II.6 Les dérivés des probiotiques .....	16
II.6.1. Les prébiotique .....	17
II.6.2. Les symbiotiques .....	17
II.6.3. Les postbiotiques .....	18
II.6.4. Les paraprobiotiques .....	19
II.7 La dysbiose .....	19
II.8 Les facteurs de risque d'une dysbiose .....	19
II.9 Les maladies vaginales .....	20
II.9.1 La vaginose bactérienne.....	20
II.9.2 La vaginite bactérienne .....	21
II.9.3 La mycose vaginale.....	22
II.9.4 Les Infections Sexuellement Transmissible.....	23

## **Partie Expérimentale**

### **Troisième chapitre : Matériel et Méthodes**

III.1. Echantillonnage.....	24
III.2.Prélèvement.....	24
III.3.Isolement et pétrification .....	24
III.4.Etudes phénotypiques .....	25
III.4.1.Etudes morphologique .....	25

III.4.2. Etude biochimique.....	25
III.4.3. Etude physiologique.....	26
III.5. L'origine des agents infectieux.....	27
III.6. Détermination de l'activation antimicrobienne des lactobacilles .....	31
III.6.1. Méthode de double gélose (spot-on-lawn method) .....	31
III.6.2. Méthode des puits.....	31

### **Quatrième chapitre : Résultats et discussion**

V.1. Isolement des lactobacilles vaginaux.....	33
V.2. Identification des isolats.....	33
V.2.1. Etude morphologique.....	33
V.2.2. Etude biochimique et physiologiques.....	34
V.3. Détermination de l'activité antimicrobienne des lactobacilles.....	38
V.3.1. Méthode de double gélose (spot-on-lawn method). .....	38
V.3.2. Méthode des puits.....	38
Conclusion .....	43
Références bibliographiques.....	45
Annexes	

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les micro-organismes prédominants tout au long du cycle de vie des femmes.....	7
<b>Tableau 2</b> : Etablissement du score de Nugent selon la quantité de bactéries <i>Lactobacillus</i> , <i>Gardnerella</i> et <i>Mobiluncus</i> .....	10
<b>Tableau 3</b> : Suggestions des critères de sélection des souches probiotiques .....	16
<b>Tableau 4</b> : Tests d'identification phénotypiques de chaque souche .....	35
<b>Tableau 5</b> : Les principales divisions au sein du genre <i>Lactobacillus</i> basées sur les caractéristiques phénotypiques.....	36
<b>Tableau 6</b> : Résultats de fermentation des glucides pour chaque souche. ....	37
<b>Tableau 7</b> : Les zones d'inhibition en mm des lactobacilles contre les bactéries infectieuses.....	39
<b>Tableau 8</b> : Les zones d'inhibition en mm des lactobacilles contre les 3 souches de <i>C.albicans</i> .....	40

# Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Coupe frontale de l'appareil génital féminin .....	4
<b>Figure 2</b> : Effet eubiotique des œstrogènes et des espèces de <i>Lactobacillus</i> dans le milieu vaginal.....	6
<b>Figure 3</b> : Taxinomie du genre <i>Lactobacillus</i> .....	8
<b>Figure 4</b> : Les trois morphotypes du score de Nugent.....	9
<b>Figure 5</b> : Rôle protecteur des lactobacilles vaginaux .....	14
<b>Figure 6</b> : Les types de symbiotiques.....	18
<b>Figure 7</b> : Logigramme de prise en charge et d'interprétation du prélèvement vaginal.....	20
<b>Figure 8</b> : Frottis vaginal avec coloration de Gram et présence de cellule-clue.....	21
<b>Figure 9</b> : photo d'un examen direct sous microscope avec la présence des candida.....	22
<b>Figure 10</b> : Culture de <i>candida spp</i> sur gélose sabouraud.....	23
<b>Figure 11</b> : Aspect macroscopique d' <i>E. coli</i> « E1 » sur milieu Hektoen .....	28
<b>Figure 12</b> : Aspect macroscopique d' <i>E. coli</i> « E2 » sur milieu Hektoen. ....	28
<b>Figure 13</b> : Identification d' <i>E. coli</i> « E2 » par la Galerie API 10S. . ....	28
<b>Figure 14</b> : Aspect macroscopique de <i>S. marcescens</i> « S2 » sur milieu hektoen. ....	29
<b>Figure 15</b> : Identification de <i>S. marcescens</i> « S2 » par la Galerie API 10S .....	29
<b>Figure 16</b> : Aspect macroscopique de <i>C. albicans</i> « C1 » sur milieu (Sabouraud+ chloramphénicol) .....	30
<b>Figure 17</b> : Aspect macroscopique de <i>C. albicans</i> « C3 » sur milieu Sabouraud au chloramphénicol.....	30
<b>Figure 18</b> : Les zones d'inhibition (Zi) selon la méthode des puis. ....	32
<b>Figure 19</b> : Observation macroscopique des différentes colonies des lactobacilles sur milieu MRSA. ....	33
<b>Figure 20</b> : Observation microscopique des cellules bactérienne après coloration de Gram.....	33
<b>Figure 21</b> : Résultats négative de nitrate réductase .....	34
<b>Figure 22</b> : Résultat positive de la production de gaz par fermentation de glucose .....	34
<b>Figure 23</b> : Résultat positive de la croissance bactérienne à 45°C. ....	35
<b>Figure 24</b> : Résultat positive de fermentation de lactose .....	37
<b>Figure 25</b> : l'activité antimicrobienne des lactobacilles par méthode de double gélose. ....	38

<b>Figure 26</b> : L'activité antimicrobienne des lactobacilles sur les germes infectieux.....	39
<b>Figure 27</b> : Effet antagoniste des lactobacilles vis-à-vis les bactéries infectieuses .....	40
<b>Figure 28</b> : Effet antagoniste des lactobacilles vis-à-vis les trois souches de <i>C.albicans</i> .....	40

# *Liste des abréviations*

BL : Bactéries Lactiques.

CVV : Candidoses vulvo-vaginites.

Dysbiose : Déséquilibre de la biodiversité de la flore.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène.

IST : Les Infection Sexuellement Transmissible.

MRS : Man, Rogosa et Sharpe nutritive.

MRSA : Man, Rogosa et Sharpe nutritive agar.

MRSB : Man, Rogosa et Sharpe nutritive bouillon.

OMS : L'Organisation mondiale de la santé.

pH : Potentiel d'hydrogène.

VB : Vaginose bactérienne.

VIH : Virus d'immunodéficience humain.

BVHRI : bactéries vaginales à haut risque infectieux.

LGG : *L. rhamnosus* GG.

NR : nitrate réductase.

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

# ***Introduction***

# *Introduction*

Depuis plusieurs années, les infections urogénitales constituent un problème majeur dans le secteur de la santé et occupent une place importante dans les maladies infectieuses. On estime qu'environ 75% des femmes auront au moins une infection vaginale au cours de leur vie et que de 40 à 45% des femmes auront plus d'un épisode. Moins de 5% des femmes souffrant de plus de quatre infections mycologiques par an (**Menard et Bretelle, 2008**). La vaginose bactérienne (VB) représente l'infection génitale basse la plus fréquente chez la femme relevant d'une altération de l'écosystème vaginal (**Lefèvre, 2002**). Tandis que la vaginite est une infection liée le plus souvent à un pathogène étranger ; une bactérie ou un parasite ne faisant pas partie de la flore urogénitale normale et qui s'accompagne de phénomènes inflammatoires intenses d'où le nom de vaginite (**Belkhane et al., 2016**). Cependant, la candidose vulvo-vaginale (CVV) est l'une des infections les plus fréquentes en consultation gynécologique. Il s'agit d'une mycose génitale symptomatique due à des levures du genre *Candida* qui s'observe chez la femme sous imprégnation hormonale. L'atteinte est d'abord vaginale, puis secondairement vulvaire (**Mahmoudi et Mameche, 2019**). En particulier, les infections sexuellement transmissibles (IST) sont des infections qui se transmettent par voie sexuelle (**Borgdorff et al., 2016 ; Grattepanche, 2022**), avec des symptômes inflammatoires. Ces infections provoquent un déséquilibre de la flore vaginal fréquemment connue sous le nom dysbiose.

L'appareil vaginal d'une femme en bonne santé et à l'état normal est colonisé par des lactobacilles composant la flore de Doderlein associés de façon minoritaire à de nombreuses autres espèces tel que les aérobie, les anaérobies et les levures du genre *Candida*. Ces germes vivent en étroite symbiose et constituent un véritable écosystème. Elles jouent un rôle protecteur et s'opposent à toute tentative d'invasion d'un microorganisme infectieux (**Jamili, 2010; Ouarabi, 2016**).

Les lactobacilles participent dans la protection de l'écosystème vaginal par de nombreux mécanismes contre les micro-organismes pathogènes susceptibles de coloniser le vagin bien que les voies génitales hautes (**Lepargneur et Rousseau, 2002 ; Spurbeck et Arvidson, 2011**). Parmi ces mécanismes ; l'inhibition de la croissance du pathogène par production de nombreuses substances inhibitrices tels que le peroxyde d'hydrogène, l'acide

lactique et les bactériocines. Ainsi que la compétition vis-à-vis les nutriments et l'inhibition de l'adhésion des pathogènes aux cellules épithéliales vaginales.

Grace a leur effet protecteur, les lactobacilles ont été considérées comme probiotiques (**Ezzariga, 2015**). Mais il a été rapporté que toutes les bactéries probiotiques ne sont pas sûres. Des préoccupations associées à l'administration de bactéries probiotiques vivantes est décrite dans des rapports de cas, essais cliniques et modèles expérimentaux (**Williams, 2010 ; Doron et Snyderman, 2015 ; Deshpande et al., 2018**). En conséquence, la communauté scientifique a commencé de chercher d'autres moyens pour bénéficier indirectement de ces bactéries, comme l'utilisation de parties cellulaires ou de produits de processus métaboliques. En ce qui concerne l'utilisation de composants cellulaires et de métabolites de probiotiques, différents termes ont été proposés, tels que « paraprobiotiques » et « Probiotiques », « cellules microbiennes non viables », « probiotiques métaboliques », « postbiotiques », etc. Le concept de paraprobiotiques a été proposé pour désigner l'utilisation de cellules microbiennes ou de parties cellulaires inactivées qui confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte (**Taverniti et Guglielmetti, 2011**).

Dans le cadre de ces concepts proposés, cette étude sera structurée en deux parties ; la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres. Le premier chapitre présente l'écosystème vaginal et *Lactobacillus*. Le deuxième chapitre s'intéresse à l'eubiose et la dysbiose vaginales

La deuxième partie c'est la partie pratique qui 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***

## ***Écosystème vaginal et Lactobacillus***

## **I.1 Historique de la flore vaginale**

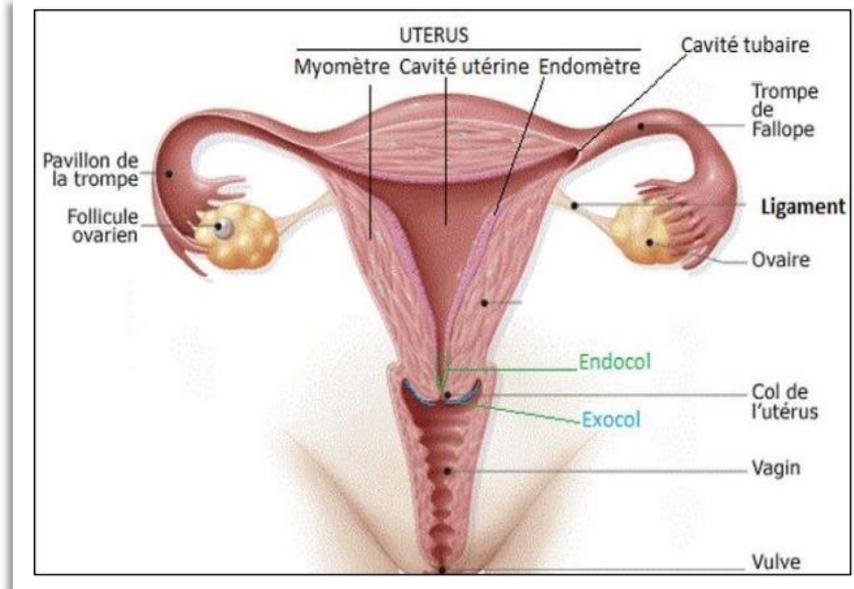
Le microbiote uro-génital représente 9 % du microbiote humain, ce qui le positionne en cinquième place après le microbiote gastro-intestinal (29%), le microbiote oral (26%), le microbiote cutané (21%) et le microbiote des voies respiratoires (14%). La flore vaginale, le microbiote vaginal ou le microbiome vaginal sont les micro-organismes qui colonisent le vagin. Ils ont été découverts par le gynécologue allemand Albert Döderlein en 1892 et font partie de la flore à prédominance humaine. La quantité et le type de bactéries présentes ont des implications importantes sur la santé de la femme (**Andreas et al., 2020**).

## **I.2 Écosystème vaginal**

Le vagin est un écosystème dynamique complexe composé des éléments biotiques (cellules épithéliales vaginales) et abiotique (sécrétion vaginale) ces derniers s'interagissent entre eux (interaction hôte-microbe et interaction entre les espèces microbiennes) (**Redondo-Lopez et al., 1990 ; Merk et al., 2005**).

### **I.2.1 Anatomie de l'appareil génital féminin**

L'appareil urogénital (**figure 1**) comprend les organes urinaires et reproducteurs du corps humain. Chez la femme, l'appareil urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre qui contient une flore diverse reflétant à la fois la flore digestive, cutanée et génitale (**Mahmoudi et Mameche, 2019**). Cependant, le vagin est un excellent milieu de culture microbien car il offre aux germes la chaleur, l'humidité et un milieu nutritif. Il est considéré comme une zone sensible du corps de la femme et représente un écosystème parfaitement équilibré lorsque la femme est en bonne santé. Les éléments importants d'un écosystème vaginal sain sont une muqueuse bien constituée et une flore vaginale naturelle contenant de l'acide lactique produit par des lactobacilles. Ensemble, ils protègent le vagin contre les infections (**Augait, 2016**).



**Figure 1** : Coupe frontale de l'appareil génital féminin (Pascal et Maye-Lasserrles)  
<https://microbiologiemedicale.fr/>

### I. 2.2 Épithélium vaginal

Le premier élément de base du microbiote vaginal est l'épithélium vaginal (**Boris et Barbés, 2000**), il est pavimenteux stratifié non kératinisé se compose de différentes couches ; la couche basale et la couche intermédiaire riche en glycogène et couche superficielle (plus différenciées), l'épithélium vaginal présente des modifications cyclique (**Lüllnan-Rauch, 2008**).

La dégradation du glycogène en acide lactique acidifié le milieu vaginal (pH compris entre 4 et 5) ce qui constitue une protection efficace contre les germes pathogènes et les mycoses (**Lüllnan-Rauch, 2008**). Tous l'épithélium se prolifère et s'épaissit en association avec le cycle menstruel et non réponse à des niveaux élevés d'œstrogènes (**Redondo-Lopez et Cook, 1990 ; Merkel et al., 2005**). La muqueuse vaginale est indispensable à la colonisation de lactobacilles protecteurs et par conséquent à l'établissement d'une flore vaginale saine, la régulation de la structure et la fonction de la muqueuse est assurée par des hormones endogènes appelées œstrogènes (**Ünlü et Donders, 2011**).

### I.2.3 Microbiote vaginal

Le microbiote vaginal c'est un ensemble des micro-organismes entre 100 millions et 1 milliard de germes par 1ml de sécrétion vaginal mais il y aussi des champignons microscopiques totalement sous la dépendance des œstrogènes des hormones féminines qui

sont secrétées par les ovaires et donc ce microbiote se met en place dès l'adolescence tout au long de la vie de la femme. Alors ce microbiote est dominé par le genre *Lactobacillus* (90%) par exemple *L. crispatus*, mais aussi des bacilles et cocci à coloration de Gram positive, des bacilles à coloration de Gram négative et des levures en faible quantité (10%) (**Kuslovic, 2023**).

### **I.2.5. Interaction microorganismes -hôte**

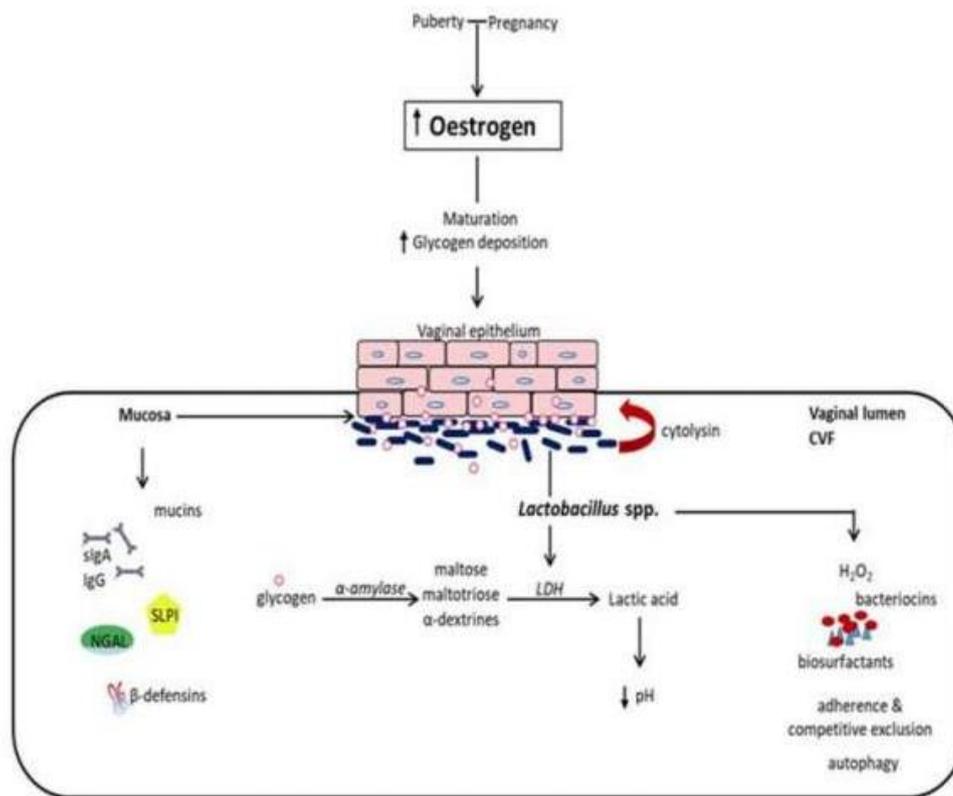
Le microbiote vaginal est au final comme tous les microbiotes, un assemblage complexe de micro-organismes qui interagissent entre eux et avec l'hôte (**Yann et al., 2020**).

Les communautés bactériennes vaginales résident dans un écosystème qui est fortement influencé par les caractéristiques de l'hôte et l'environnement humain, il est souvent désigné comme une relation commensale. Cela n'est presque certainement pas le cas chez le microbiome vaginal où les bactéries sont totalement dépendantes de l'hôte pour les éléments nutritifs et à leur tour, les communautés bactériennes jouent un rôle dans la protection contre les microorganismes pathogènes (**Hickey et al., 2012**).

La stabilité du système micro-écologique vaginal est important pour la relation entre l'hôte et la flore normale, aussi bien pour les différents microorganismes entre eux (**Pascual et Barberis, 2014**).

L'homéostasie de la cavité vaginale est essentiellement liée à la présence d'acide lactique contribuant à l'acidification du pH vaginal aux alentours de  $3,5 \pm 0,2$  (**O'Hanlon et al., 2013 ; Smith et Ravel, 2017 ; O'Hanlon et al., 2019**). L'épithélium vaginal et le microbiote sont responsables respectivement de 20% et 80% de la production de cet acide lactique (**Godha et al., 2018 ; Barrientos-Durán et al., 2020**). Cette production est dépendante de l'imprégnation hormonale : les œstrogènes, hormones sexuelles féminines, induisent la prolifération de l'épithélium vaginal et augmentent la charge en glycogène des cellules intermédiaires. Lorsque l'épithélium requiert de l'énergie, le glycogène intracellulaire est mobilisé pour la glycolyse anaérobie. Le pyruvate issu de cette glycolyse est ensuite métabolisé en lactate, principalement du L-lactate. Ce métabolisme est favorisé par les conditions d'anaérobiose de la cavité vaginale. La seconde et principale source de production de l'acide lactique provient du glycogène retrouvé dans la lumière vaginale, issu de la desquamation et de la lyse des cellules épithéliales. Le glycogène est catabolisé par des  $\alpha$ -amylases en maltose, maltotriose et  $\alpha$ -dextrines. Grâce à leur déshydrogénase (LDH), *Lactobacillus spp* sont capables de transformer les produits de dégradation du glycogène en lactate, avec une prédominance de D-lactate (**figure 2**).

L'imprégnation en œstrogène favorise donc le développement des lactobacilles dans la cavité vaginale (**Godha *et al.*, 2018**). Une hypothèse suggère que les niveaux élevés d'amidon dans l'alimentation humaine entraînent une augmentation du glycogène dans le tractus vaginal, et donc favorisent l'implantation des lactobacilles. Ceci pourrait expliquer que la composition du microbiote vaginal chez l'espèce humaine soit unique (**Miller *et al.*, 2016**).



**Figure 2 :** Effet eubiotique des œstrogènes et des espèces de lactobacilles dans le milieu vaginal (**Amabebe et Anumba, 2018**)

### I.3. Evolution du microbiote vaginal

La flore vaginale évolue en fonction des différents stades de la vie génitale (**Bergogne-Bérézin, 2007**). Le microbiote vaginal se modifie au cours de la vie de la femme sous l'influence des hormones féminines (œstrogènes), s'installe à la puberté et évolue suivant le cycle menstruel, la vie sexuelle, les grossesses, la contraception, la ménopause (**Santulli *et al.*, 2018**).

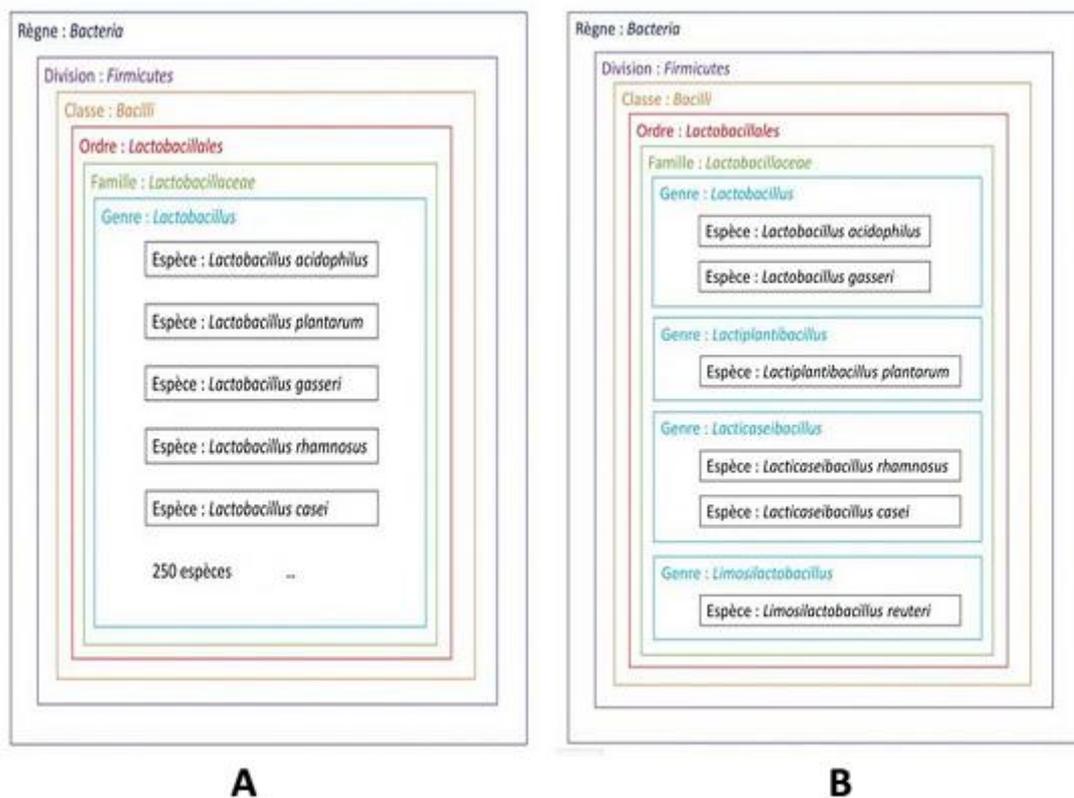
**Tableau 1** : les micro-organismes prédominants tout au long du cycle de vie des femmes (Berroquia, 2020).

Cycle de vie de la femme	Microorganismes prédominants	Références
<b>Enfance</b>	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)
<b>Prépubère</b>	Faible abondance de <i>Lactobacillus</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> et <i>Prevotella bivia</i>	(Ran et Mladenovi, 2012)
<b>Puberté</b>	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)
<b>Adulte</b>	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)
<b>Ménopause</b>	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)

#### I.4 La classification actuelle des lactobacilles

En 1949, Orla-Jensen a réalisé une classification des lactobacilles selon des critères taxinomiques suivant : morphologie (bacilles), fermentation du glucose (homofermentaire: ne produit que de l'acide lactique et hétérofermentaire : produit de l'acide lactique et de l'acide acétique) et croissance à températures extrêmes (10-45°C) (Orla-Jensen *et al.*, 1949).

Récemment, en 15 avril 2020, une publication dans l'International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM) a réévalué les critères du genre *Lactobacillus* notamment les critères phylogénétiques. En effet, jusqu'en mars 2020, le genre *Lactobacillus* comptait près de 250 espèces différentes. Cette trop grande diversité au sein d'un même genre était devenue trop compliquée. Dans cette étude, les chercheurs ont proposé la création de 24 nouveaux genres en plus de *Lactobacillus* au sein de la famille *Lactobacillaceae* sans modification du nom d'espèce. Par exemple, *Lactobacillus plantarum* devient *Lactiplantibacillus plantarum* (**figure 3**). Ils proposent aussi la fusion des familles *Lactobacillaceae* et *Leuconostocaceae* sous la même appellation *Lactobacillaceae*. Cette nouvelle nomenclature est effective dès maintenant même si l'ancienne est encore tolérée pour une modification progressive de la documentation, la recherche et l'enseignement. Pour faciliter la transition et éviter les erreurs, l'université d'Alberta au Canada et l'université d'Anvers en Belgique, ont créé des outils pour retrouver les nouveaux noms à partir des anciens (Zheng *et al.*, 2020).



**Figure 3 :** Taxinomie du genre *Lactobacillus*

A. Ancienne classification B. Nouvelle classification (avril 2020)

<https://nutrixéal-info.fr/probiotiques-vent-de-nouveaute-sur-les-lactobacilles/>

## I.5 Score de Nugent méthode d'évaluation de la santé vaginale

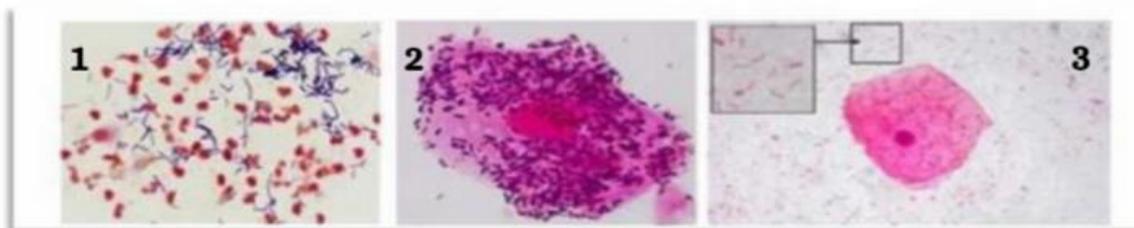
Le score de Nugent est un test de laboratoire qui permet de diagnostiquer la vaginose bactérienne, une infection vaginale causée par un déséquilibre de la flore microbienne. Ce test a été mis au point par le médecin américain Robert P. Nugent et ses collègues en 1991 (Nugent *et al.*, 1991). Le score de Nugent explorant par examen direct après coloration de Gram, des sécrétions vaginales prélevées au niveau du cul-de-sac postérieur ou latéral du vagin consiste à quantifier trois populations de bactéries (Aly Ababa, 2008).

- *Lactobacillus spp* : Bacilles à Gram positif, à bords parallèles.
- *Gardnerella spp* et *Bacteroides spp* : Bacilles à Gram variable, coccobacilles polymorphes.
- *Mobiluncus spp* : Bacilles à Gram variable, incurvés en coup d'ongle, on peut établir le score de Nugent qui divise la flore vaginale en trois groupes (**figure 4 et tableau 2**):

**Groupe 1 :** Score compris entre 0 et 3 une flore normale, à prédominance de lactobacilles (Aly Ababa, 2008).

**Groupe 2 :** Score compris entre 4 et 6 une flore intermédiaire, avec des lactobacilles peu abondantes et associées à d'autres morphotypes bactériens peu différenciés en petites quantités (Aly Ababa, 2008).

**Groupe 3 :** Score compris entre 7 et 10 une flore évocatrice d'une vaginose bactérienne. Les lactobacilles ont disparu, au profit d'une flore anaérobie abondante et polymorphe (Aly Ababa, 2008).



**Figure 4 :** Les trois morphotypes du score de Nugent.

(1) *Lactobacilles* (2) Morphotypes *Gardnerella* (3) Morphotypes *Mobiluncus*

<https://microbiologie-Clinique.com/score-Nugent.html>

**Tableau 2 :** Etablissement du score de Nugent selon la quantité de *Lactobacillus*, *Gardnerella* et *Mobiluncus* (<http://www.fmcdinan.org/2017/03/score-de-nugent.html>)

Types de population	Nombre de bactéries visibles (objectif 100)	Score
<i>Lactobacillus</i>	> 30	0
	6 – 30	1
	1 – 5	2
	< 1	3
	0	4
<i>Gardnerella</i> et <i>Bacterioides</i>	> 30	4
	6 – 30	3
	1 – 5	2
	< 1	1
	0	0
<i>Mobiluncus</i>	6 – 30	2
	1 – 5	1
	0	0

## I.6 Rôle protecteur des lactobacilles vaginaux

Les lactobacilles participent dans la protection de l'écosystème vaginal par de nombreux mécanismes contre les micro-organismes pathogènes susceptibles de coloniser le vagin ainsi que les voies génitales hautes (Lepargneur et Rousseau, 2002 ; Spurbeck et Arvidson, 2011).

### I.6.1. Inhibition de la croissance du pathogène

#### I.6.1.1. Production de peroxyde d'hydrogène

L'un des mécanismes de défense de la flore vaginale est la production du peroxyde d'hydrogène qui est un composé liquide et visqueux connu sous sa formule chimique  $H_2O_2$ . Il est également appelé eau oxygénée ou perhydrol. Il agit comme désinfectant et antimicrobien. La synthèse de  $H_2O_2$  n'est pas la même selon les espèces de lactobacilles. En effet, pour *L. crispatus* et *L. jensenii* près de 95% et 94% de leurs souches produisent de l' $H_2O_2$  par contre souches de *L. gasseri* et *L. iners* près de 71% et 9%, respectivement (Lamont et Sobel, 2011).

En milieu aérobie, l'oxygène (O<sub>2</sub>) est réduit en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par une oxydase flavo protéinique présente chez les lactobacilles. Ce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut être métabolisé par des peroxydases et des ions halogénures réducteurs présents dans le milieu vaginal. L'ensemble (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et ses métabolites) provoque une toxicité oxydante vis-à-vis des agents pathogènes par inactivation d'enzymes, destruction des lipides membranaires ce qui aboutit à la mort cellulaire (**figure 5A**). Les lactobacilles sont protégés par une enzyme la NADH peroxydase qui convertit le peroxyde d'hydrogène en molécules d'eau avec libération d'oxygène (**Ocaña et al., 1999 ; Lamont et Sobel, 2011**).

### I.6.1.2. Production d'acide lactique

La principale molécule responsable de l'acidification du vagin est l'acide lactique. Elle est synthétisée via la fermentation lactique du glycogène présent dans le fluide vaginal par les lactobacilles (produisant les formes D- et/ou L- lactate) et par l'épithélium (produisant seulement la forme L-lactate) ou les sécrétions vaginales contiennent plus de 50% de D-lactate (**figure 5A**). Ainsi, les lactobacilles sont la première source d'acide lactique dans le vagin (**Boskey et al., 2001**). Il est aussi noté que dans des conditions proches d'*ex vivo*, l'acide lactique seul, est efficace contre les microbes de vaginose bactérienne dans les sécrétions vaginales même en absences des bactériocines. Ces études *in vitro* et *ex vivo* suggèrent que l'acide lactique délivré directement ou par une souche probiotique a le potentiel de maintenir l'eubiose vaginale ou d'inverser la dysbiose et de protéger contre les infections bactériennes sexuellement transmissibles (**Tachedjian et al., 2017**).

### I.6.1.3. Production des bactériocines

Les bactériocines sont des substances antimicrobiennes, de nature protéique, bactéricide restreint, (**figure 5B**) elles sont actives aux milieux neutres ou acides (**Pascual et Barberis, 2011**). Bactériocine DT24 produite par voie vaginale par *L. brevis* DT24 était antagoniste contre *E. coli* uropathogène (**Pangsomboon et al., 2006 ; Trivedi et al., 2013**).

De plus, la bactériocine extraite du probiotique *L. acidophilus* KS40 était capable d'inhiber les agents pathogènes urogénitaux tels que *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Gaspar et al., 2018**). La reutérine produite par *L. reuteri* exerce un effet antimicrobien en modifiant les groupes thiols et en induisant un stress oxydatif dans les cellules bactériennes (**Schaefer et al., 2010 ; Cicienia et al., 2014**).

#### I.6.1.4. Compétition vis-à-vis des nutriments

L'arginine est un substrat utilisé à la fois par les lactobacilles et les agents pathogènes anaérobies (sauf *Gardnerella vaginalis*) comme source d'énergie. Les lactobacilles métabolisent l'arginine en citrulline et en ammoniac via une arginine désaminase alors que les agents pathogènes métabolisent l'arginine en putrescine via une arginine décarboxylase. C'est cette putrescine qui augmente le pH vaginal, détruit les muqueuses vaginales, inhibe la réponse immunitaire et est responsable de l'odeur caractéristique des vaginoses. Il en découle alors une compétition nutritionnelle qui limite la prolifération du pathogène (**Lepargneur et Rousseau, 2008 ; Grattepanche, 2022**).

#### I.6.2. Inhibition de l'adhésion du pathogène

##### I.6.2.1. Adhésion aux cellules épithéliales vaginales

Il existe deux types de mécanismes qui expliquent l'adhérence des lactobacilles aux cellules épithéliales vaginales (**figure 5B**).

Le premier consiste en une adhérence spécifique via des adhésines, ils s'agissent des petites structures de nature variable (protéique, polysaccharidique, lipoteichoïque...), qui sont présentes au niveau des surfaces externes de la paroi. Elles viennent se fixer au niveau de sites récepteurs des cellules épithéliales ou du mucus vaginal. Les sites récepteurs sont, soit des glycoprotéines, soit des glycolipides (**Rousseau, 2002**).

Le second consiste en une adhérence non spécifique permise par les différentes interactions physico-chimiques qui peuvent exister entre les lactobacilles et les cellules épithéliales vaginales (force de Van Der Waals, forces électrostatiques, liaisons hydrogènes et hydrophobe Lepargneur ...) (**Rousseau, 2002**).

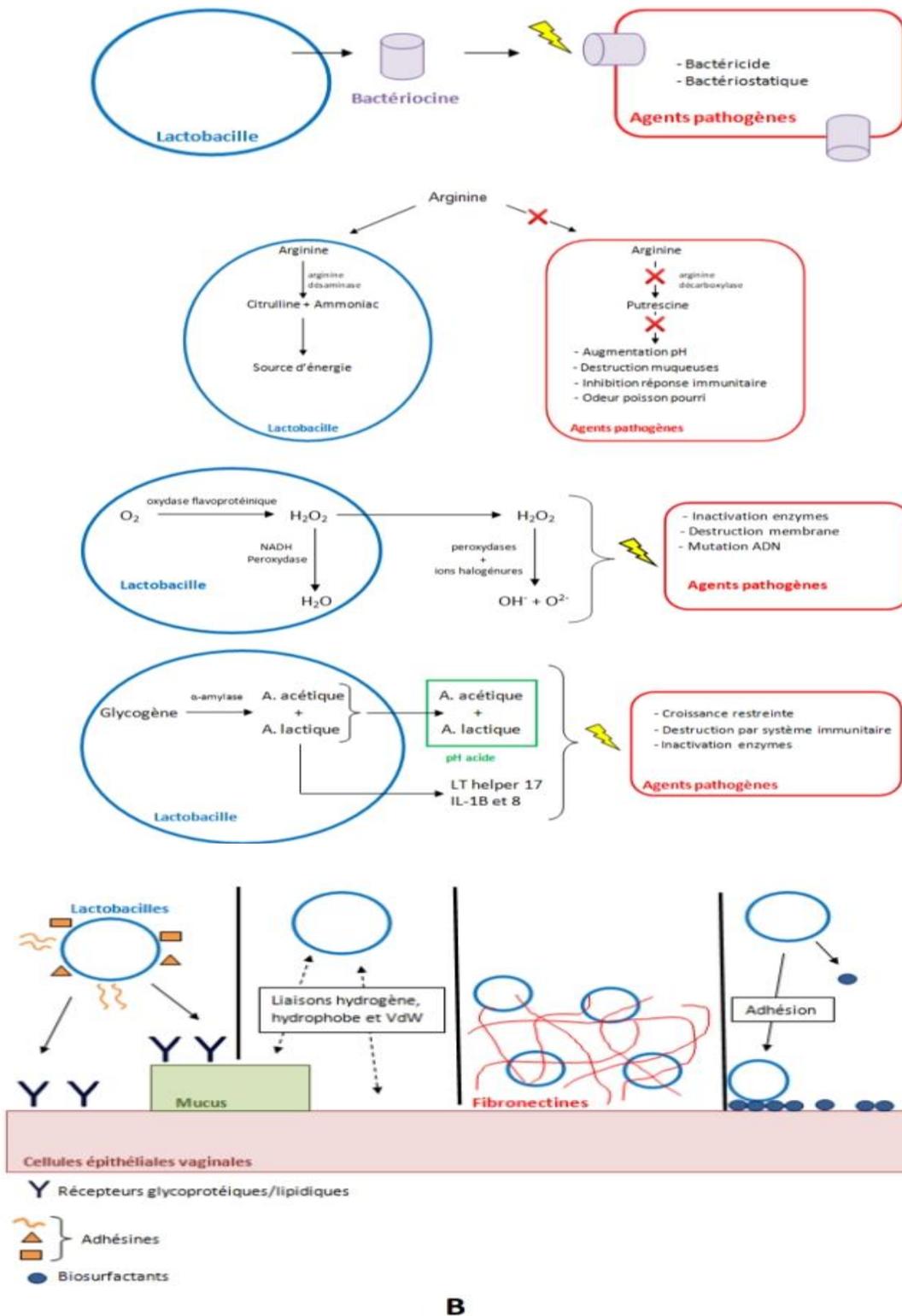
##### I.6.2.2. Adhésion à la fibronectine humaine

Fibronectine est une glycoprotéine, soluble dans le fluide vaginal. En effet, certaines souches de lactobacilles ont l'avantage de se fixer de manière sélective à la fibronectine empêchant ainsi la fixation des pathogènes (**figure 5B**). Cette adhérence est d'autant plus forte que le pH vaginal est acide (**Lepargneur et Rousseau, 2002 ; Bohbot, 2007**).

##### I.6.2.3. Production des biosurfactants

Ce sont des molécules glycolipidiques ou lipopeptidiques, hydrophiles et lipophiles à la fois produit par les *Lactobacilles*. Les biosurfactants permettent au lactobacille d'utiliser les substances organiques comme source de nutriments par émulsification des composés carbonés hydrophobes. Ces substances favorisent aussi l'adhésion intercellulaire et la régulation du biofilm en agissant sur les tensions de surface et en renforçant les interactions entre la flore et

la muqueuse vaginale (**figure 5B**). Les biosurfactants sont présents aussi bien chez certains *lactobacilles* comme *L. fermentum* et *L. acidophilus* que chez des souches pathogènes tels que *E. coli* et *C. albicans*. Certains de ces molécules semblent avoir un effet antimicrobien par effet sur les tensions superficielles membranaires pouvant entraîner une rupture cellulaire à forte concentration (**Spurbeck et Arvidson, 2011 ; Bohbot et Lepargneur, 2012 ; Aude, 2016**).



**Figure 5 :** Rôle protecteur des lactobacilles vaginaux. (A) Inhibition de la croissance du pathogène. (B) Inhibition de l'adhésion du pathogène (Grattepanche, 2022).

# ***Deuxième chapitre***

***L'eubiose et le dysbiose  
vaginale***

## II.1. L'eubiose vaginale

La présence de bactéries bénéfiques productrices d'acide lactique, principalement du genre *Lactobacillus*, est une caractéristique de l'eubiose vaginale. Lorsqu'elles sont prises sous forme de probiotiques ou naturellement présentes, les espèces du genre *Lactobacillus* peuvent induire une eubiose vaginale en éliminant de nombreux pathogènes et micro-organismes dysbiotiques (Aroutcheva *et al.*, 2001; Selle and Klaenhammer, 2013).

## II.2. Définition des probiotiques

La définition officielle des probiotiques a été élaborée par l'OMS et FAO en 2001 et était définie comme suite : « les probiotiques sont des organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, confèrent un bénéfice pour la santé du consommateur ».

Les probiotiques, sont des micro-organismes vivants susceptibles de produire des effets bénéfiques chez l'hôte (Madsen, 2001).

## II.3. Historique des probiotiques

On peut suivre l'histoire des probiotiques en suivant la carte chronologique ci-dessous :

- La découverte de la bactérie *Bifidobacterium bifidum* par le scientifique Henri Tissier, pédiatre à l'Institut Pasteur, en 1899 comme un traitement pour le tube digestif et la diarrhée chez les enfants malades, ce qui est maintenant connu sous le nom de probiotiques (Tissier, 1907).
- En 1928, Stanley Thomas constata que les prélèvements vaginaux de femmes atteintes de gonorrhées étaient pauvres quantitativement en lactobacilles (Lamont et Sobel, 2011)
- Administration d'une gélule à  $2.10^9$  cellules en 1992 par Bruce et leur groupe contenant des souches de *L. casei GR-1* et *L. fermentum B-54* par semaine pendant un an à dix patientes souffrant d'infections urinaires récurrentes. A la suite de ce traitement, la moitié de ces femmes n'ont plus déclaré de récurrences (Bruce *et al.*, 1992).

## II.4. Effet bénéfique des probiotiques

Le but d'un traitement par probiotique est de rétablir l'équilibre de l'écosystème vaginal en remplaçant la flore naturelle défaillante puis en créant les conditions écologiques propices à la recolonisation du vagin par les lactobacilles. Le rôle de protection des lactobacilles est assuré par un certain nombre de propriétés: production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, de bactériocines, de biosurfactants et co-agrégation. Les lactobacilles possèdent ces propriétés à des degrés divers. De plus, il y a une grande disparité des espèces

retrouvées de lactobacilles chez chaque femme. Pour ces raisons, une association de lactobacilles est plus efficace qu'une seule souche (Marie, 2018).

## II.5. Les critères de sélection des souches probiotiques

Suivant la définition ci-dessus, des conditions doivent être établies pour sélectionner les souches appropriés à utiliser comme probiotiques, en s'assurant que ces souches respectent les critères fonctionnels technologiques et de sécurité, telles qu'indiquées dans le **tableau 3**.

**Tableau 3** : Suggestions des critères de sélection des souches probiotiques (Famularo *et al.*, 2001 ; FAO et OMS 2001).

Critères	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Souche isolée du vagin d'une femme saine</li> </ul>
De sécurité	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Historique de non pathogénicité</li> <li>• Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques</li> <li>• Pas de dégradation excessive du mucus</li> </ul>
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adhésion aux cellules vaginales et persistance dans le vagin</li> <li>• Production de substances antimicrobiennes (notamment de peroxyde d'hydrogène) et antagonisme vis-à-vis des pathogènes (notamment compétition d'adhésion)</li> <li>• Effets sur la santé documentés</li> </ul>
Critères Technologiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stabilité au cours des procédés de fabrication et du produit fini</li> <li>• Conservation des propriétés probiotiques après production</li> <li>• Relargage rapide des souches en dehors de la matrice après introduction dans le vagin</li> </ul>

## II.6 Les dérivés des probiotiques

Le genre *Lactobacillus* est le plus grand genre parmi les bactéries lactiques et comprend plus de 237 espèces (Rossi *et al.*, 2019), avec la découverte continue de nouvelles espèces, comme la bactérie *L. mitrioptères* (Chiba *et al.*, 2018) et *L. timonensis* (Afouda *et al.*, 2017). Certaines espèces de *Lactobacillus* font partie de ces espèces probiotiques les plus utilisées (Bron, 2013). Il a été rapporté que toutes les bactéries probiotiques ne sont pas sûres. Des préoccupations associées à l'administration de bactéries probiotiques vivantes est décrite

dans des rapports de cas, essais cliniques et modèles expérimentaux (**Williams, 2010 ; Doron et Snyderman, 2015 ; Deshpande et al., 2018**). En conséquence, la communauté scientifique a commencé à rechercher d'autres moyens de bénéficier indirectement de ces bactéries. En ce qui concerne l'utilisation de composants cellulaires et de métabolites de probiotiques, différents termes ont été proposés, tels que « paraprobiotiques », « Probiotiques », « cellules microbiennes non viables », « probiotiques métaboliques », « postbiotiques », etc. Le concept de paraprobiotiques a été proposé pour désigner l'utilisation de cellules microbiennes ou de parties cellulaires inactivées qui confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte (**Taverniti et Guglielmetti, 2011**).

### **II.6.1. Les prébiotique**

Les prébiotiques sont définis comme ingrédients fermentescibles sélectifs qui permettent des changements spécifiques, à la fois dans la composition et / ou de l'activité de la microflore gastro-intestinale qui confère des avantages sur le bien-être et la santé de l'hôte (**Wongputtisin et Khanongnuch, 2015**). Les prébiotiques avérés à ce jour sont tous des glucides et la plupart possède un faible degré de polymérisation à l'exception des amidons résistants (**Afssa, 2005**).

### **II.6.2. Les symbiotiques**

Les symbiotiques sont défini comme des associations appropriées de probiotiques et de prébiotiques. Ils peuvent avoir chacune des effets indépendants mais peuvent aussi être synergiques, d'où leur intérêt (**WGO, 2008**). Il existe deux types de symbiotiques (**figure 6**) :

**1. Les Symbiotiques complémentaires :** composés d'un ou de plusieurs prébiotiques non spécifiques aux probiotiques associés. Chacun agit indépendamment de l'autre pour obtenir les effets bénéfiques pour la santé (**Grattepanche, 2022**).

**2. Les Symbiotiques synergiques :** composé d'un ou plusieurs prébiotiques spécifiques aux probiotiques associés. L'ensemble agit pour obtenir les effets bénéfiques pour la santé (**Grattepanche, 2022**).

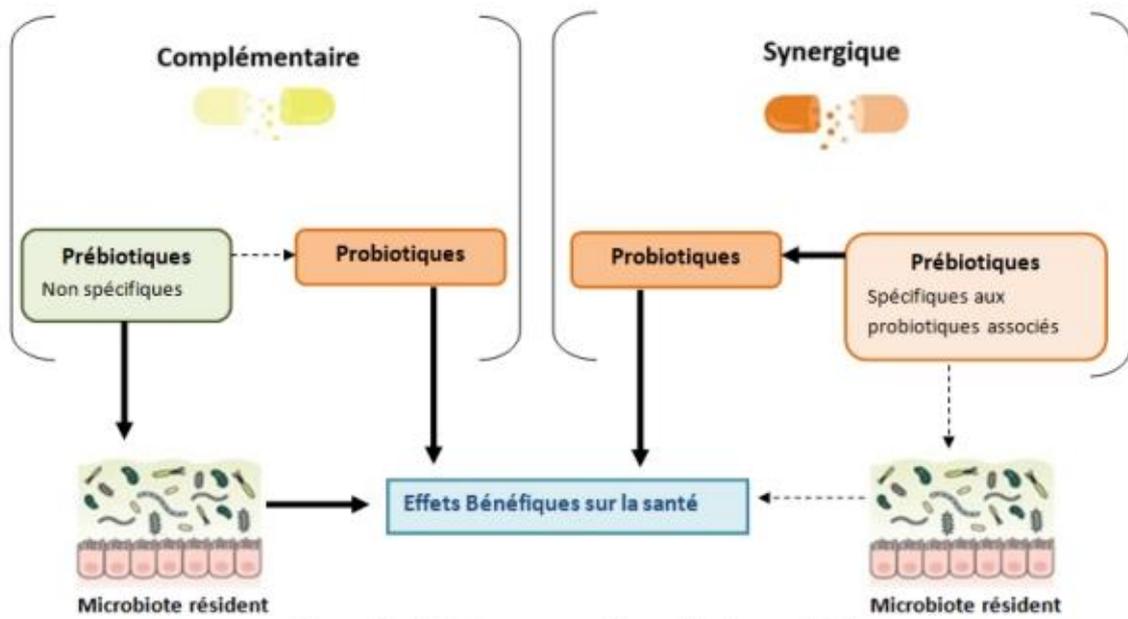


Figure 6 : Les types de symbiotiques (Grattepanche, 2022).

### II.6.3. Les postbiotiques

Les postbiotiques sont définis comme des produits ou métabolites solubles sécrétés par des probiotiques qui présentent des bénéfices physiologiques pour l'hôte (Aguilar-Toalá *et al.*, 2018). Définition similaire à « facteurs résultant de l'activité métabolique d'un probiotique ou de toute molécule libérée capable de conférer des effets bénéfiques à l'hôte de manière directe ou de manière indirecte » a été faite par d'autres chercheurs (Tsilingiri et Rescigno, 2013). Parmi les types de postbiotiques on a :

#### 1. Protéines et peptides sécrétés

- Bactériocines (Perez *et al.*, 2014).
- Facteur favorisant l'agrégation (APF) (Goh *et al.*, 2010 ; Hevia *et al.*, 2013)

#### 2. Petites molécules

- Acides gras à chaîne courte (Layden *et al.*, 2012 ; Tan *et al.*, 2014).
- Acide linoléique conjugué (CLA) (Dahiya *et al.*, 2017 ; Dahiya *et al.*, 2018).
- Neurotransmetteurs (Oleskin *et al.*, 2016).

#### II.6.4. Les paraprobiotiques

Le concept de paraprobiotiques a été proposé pour indiquer l'utilisation de cellules microbiennes inactivées ou de fractions cellulaires qui confèrent un bénéfice de santé à l'hôte (Taverniti et Guglielmetti, 2011).

Les composants les plus courants de la surface cellulaire sont :

- Polysaccharides de la paroi cellulaire (Castro-Bravo *et al.*, 2018 ; Kim *et al.*, 2018).
- Acide teichoïque (Kleerebezem *et al.*, 2010).
- Peptidoglycane (Lebeer *et al.*, 2010).
- Polysaccharides de la paroi cellulaire (Liu *et al.*, 2020).
- Protéines de surface cellulaire : telles que les protéines LPXTG (Call *et al.*, 2013), les protéines S-LAYER (Sengupta *et al.*, 2016), les protéines MOONLIGHTING (Patel *et al.*, 2016).

#### II.7 La dysbiose

Une dysbiose vaginale c'est-à-dire un déséquilibre de la composition de la flore microbienne qui peut favoriser l'apparition d'une infection génitale telle qu'une mycose ou une vaginose bactérienne (Mauries *et al.*, 2021).

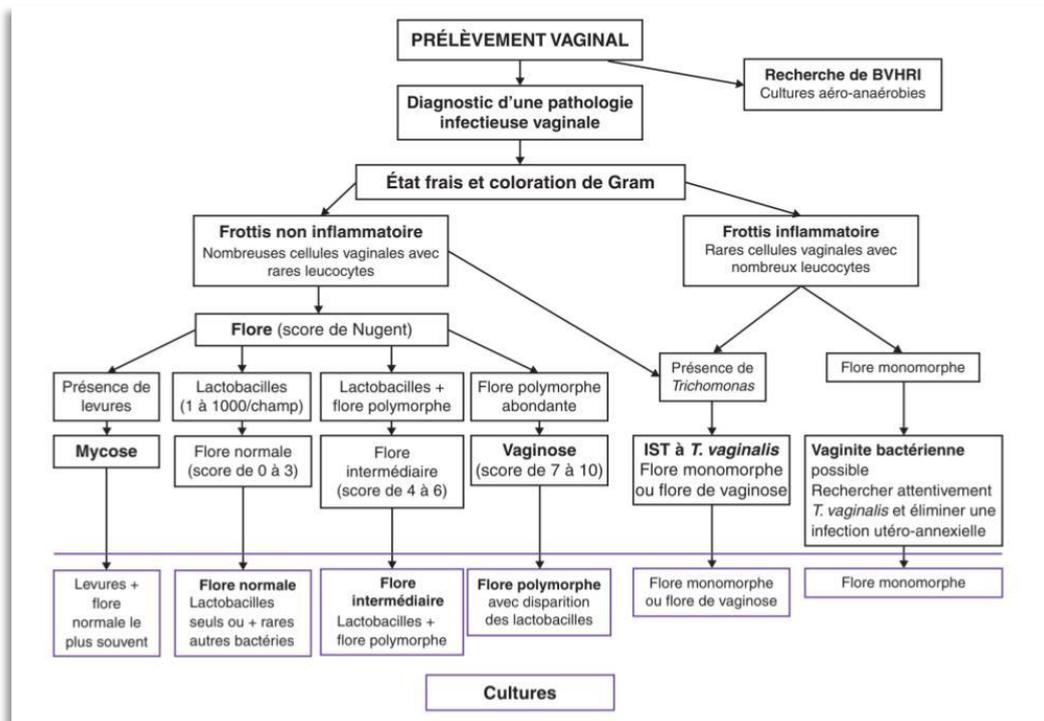
#### II.8 Les facteurs de risque d'une dysbiose

- Variations hormonales: au cours du cycle menstruel, grossesse et ménopause, il y a un changement hormonal et par conséquent un changement du rôle des œstrogènes sur la synthèse de glycogène qui est le nutriment privilégié des lactobacilles.
- Variation du pH: acidification du vagin.
- Contraception: pilule, spermicide, stérilet diaphragme.
- Grossesse: il y a une croissance constante d'œstrogènes pendant la grossesse et donc une augmentation proportionnelle de glycogène au niveau vaginal ce qui favorise les infections à *C. albicans* ; principale cause des candidoses vulvo-vaginites (CVV) et des VB.
- Accouchement: le post-partum implique une chute hormonale brutale dont les œstrogènes. Le cycle d'imprégnation glycogénique n'est plus alimenté ce qui provoque la diminution rapide de la population de lactobacilles, l'augmentation du pH et ainsi l'augmentation d'un risque infectieux.

- Hygiène de vie: douches vaginales, savon intime inadapté, sous-vêtements synthétiques, stress, tabac, alimentation, facteurs génétiques (Vanechoutte, 2017 ; Kuslovic, 2023).
- Pathologies pré-existantes: diabète, déficit immunitaire.
- Prise de traitement : antibiotiques, immunosuppresseurs, corticoïdes, antiseptiques, ovules antifongiques, radiothérapie (Grattepanche, 2020 ; Kuslovic, 2023).

## II.9. Les maladies vaginales

Afin de diagnostiquer une maladie vaginale, un prélèvement vaginal doit être préparé pour pouvoir réaliser un examen direct, une coloration, et une culture si nécessaire comme indique le logigramme suivant (figure 7) (Ploy *et al.*, 2016).

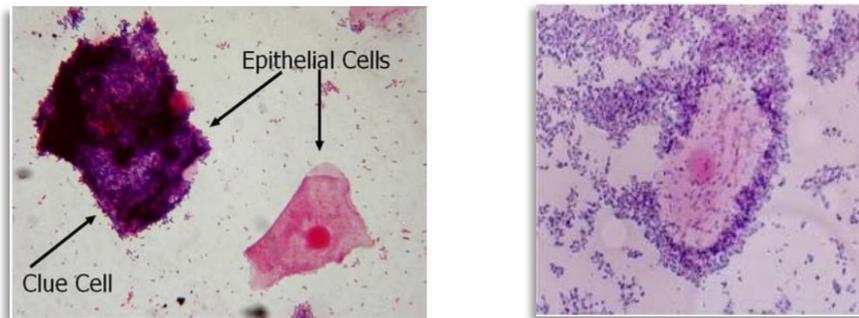


**Figure 7** : Logigramme de prise en charge et d'interprétation du prélèvement vaginal (BVHRI : bactéries vaginales à haut risque infectieux ; IST : infection sexuellement transmissible) (Ploy *et al.*, 2016).

### II.9.1. La vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est une maladie très répandue chez les femmes du monde entier. Elle 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)

**(figure 8)** 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*, *Atopobium vaginae*, *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).



**Figure 8:** Frottis vaginal après coloration de Gram et présence de cellule-clue (Center for Disease Control and Prevention, 2010).

**NB :** Les Clue-cells sont des cellules épithéliales de l'exocol vaginal tapissées de bacilles Gram négatif type *Gardnerella* ou *Mobiluncus*.

### II.9.2. La vaginite bactérienne

La vaginite bactérienne est une infection liée le plus souvent à un agent pathogène étranger ; une bactérie ou un parasite ne faisant pas partie de la flore urogénitale normale et qui s'accompagne de phénomènes inflammatoires intenses d'où le nom de vaginite. Par ailleurs, la vaginite parasitaire est la plus fréquente qui peut être due soit à des helminthes, des ectoparasites ou des protozoaires dont *Trichomonas vaginalis* responsable de la trichomonose uro-génitale, celle-ci est la plus fréquente (Jamili, 2010). Les vaginites se définissent par des symptômes cliniques divers dominés par les phénomènes inflammatoires. Les symptômes cliniques les plus souvent rapportés par les patientes sont le prurit et/ou les brûlures vaginales et/ou vulvaires et l'apparition de leucorrhées inhabituelles (Sadik, 2020).

### II.9.3. La mycose vaginale

La présence d'une surcroissance de la levure dans le vagin porte le nom de «la vaginite à levure » (**Beaudry, 2008**). C'est une infection mycosique très répandue qui affecte une large proportion de femmes. L'agent pathogène est généralement *C. albicans*, une levure commensale de la muqueuse vaginale (**Amouri et al., 2010**). Lorsque l'infection débute dans le vagin, les mycéliums levuriens produisent des lésions et de l'inflammation. Les pertes vaginales sont abondantes, inodore, épaisse, de couleur blanchâtre et ont l'aspect du lait caillé adhérant aux parois du vagin et du col de l'utérus (**Beaudry, 2008**).

Le diagnostic médical se fait en recherchant les symptômes antérieurs pour les confirmer ultérieurement en laboratoire à travers les tests suivants :

**A. Un examen direct** : à travers un microscope, on observe un prélèvement vaginal à l'état frais dans du sérum physiologique, les levures apparaissent arrondies ou ovales, de 4 à 8µm, elles sont bourgeonnantes avec ou non des filaments mycéliens (**figure 9**).



**Figure 9** : Examen direct sous microscope avec la présence du *Candida*

<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/6.html>

**B. Culture sur milieu Sabouraud additionné de Chloramphénicol ou de gentamicine** :

A partir d'un prélèvement vaginal, une culture sur le milieu Sabouraud additionné de Chloramphénicol ou de gentamicine a été effectuée puis incubée à 37°C pendant 48 h. Après incubation, des colonies blanches lisses et brillantes s'apparaissent, représente le développement des levures (**figure 10**).



**Figure 10 :** Culture de *Candida spp* sur gélose sabouraud

<https://microbiologie-clinique.com/gelose-sabouraud.html>

#### II.9.4. Les Infection Sexuellement Transmissible

Les Infection Sexuellement Transmissible (IST) sont des infections qui se transmettent par voie sexuelle : rapport vaginal, anal, oral et même parfois par simple contact cutanéomuqueux. Elles peuvent se transmettre aussi de la mère à l'enfant pendant la grossesse, l'accouchement ou l'allaitement. Il existe plusieurs microorganismes responsables d'IST, les plus rencontrées sont :

- Bactérienne : *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma*.
- Virale : *Papillomavirus* (HPV), VIH, Herpes simplex, hépatite B.
- Parasitaire : *Trichomonas vaginalis* (Borgdorff et al., 2016 ; Grattepanche, 2022).

***Partie***

***Expérimentale***

# ***Troisième chapitre***

## ***Matériel et Méthodes***

### III.1. Echantillonnage

Sept échantillons vaginaux ont été prélevés à partir des femmes saines sous certaines conditions (âge reproductif entre 18 et 45 ans, non ménopausées, ne présentant aucun symptôme d'infections vaginales, ne prenant pas d'antibiotiques pendant 15 jours, n'utilisant pas de contraceptifs).

Toutes les volontaires ont obéi aux conditions suivantes avant le prélèvement:

- Absence de toute toilette intime, tout traitement local (crème, ovules, savons, gel) ainsi que tout rapport sexuel dans les 24 heures précédant l'examen,
- Le prélèvement est effectué généralement avant la première miction matinale,
- Le prélèvement est réalisé avant ou à distance de tout traitement antibiotique,
- Pas de prélèvement pendant la période menstruelle car la flore est modifiée et souvent polymorphe (**Bergal, 2016**).

Ce prélèvement a été effectué après un consentement écrit et signé par ces volontaires (Annexe n°1). Aussi une enquête sur la santé vaginale des volontaires a été réalisée (Annexe n°2).

### III.2. Prélèvement

Le prélèvement des échantillons vaginaux a été effectué par une sage femme de manière aseptique avec des écouvillons stériles pour être transporté directement au laboratoire de microbiologie n°3 à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem Site Ex ITA.

### III.3. Isolement et purification

Dès que les échantillons arrivés au laboratoire, les écouvillons ont été placés directement dans des tubes contenant du MRSB et incubés en anaérobiose à 37°C pendant 24h puisensemencés sur un milieu MRSA pour être incubés à 37°C pendant 48 h dans des conditions anaérobiques. Les colonies obtenues ont été purifiées sur gélose MRS. Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche de technologie alimentaire et nutrition de l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem site Ex INES.

NB : Deux souches de lactobacilles ont été utilisées comme témoin positif qui ont un effet antagoniste sur les germes infectieux.

- La souche *L. rhamnosus GG* (LGG) fournie par le laboratoire de microbiologie et biologie moléculaire, Università Cattolica del Sacro Cuore, Cremona, Italie.
- La souche(L23<sub>1</sub>) isolée à partir d'une femme saine fournie par **Dr Bechelaghem Nadia** identifiée comme *L. reuteri* (**Bechelaghem, 2017**).

### ➤ III.4. Etudes phénotypiques

#### III.4.1. Etude morphologique

##### ➤ Examen macroscopique

Cet examen permet de constater la morphologie des colonies obtenues sur milieu solide. En déterminant : la forme, la taille, l'opacité, l'aspect, la couleur et le contour.

##### ➤ Examen microscopique

Cette étude a été réalisée par deux techniques :

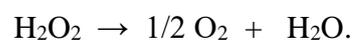
Observation à l'état frais : Cette technique permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie. Il est souvent possible de visualiser si, les cellules sont mobiles ou non. La technique consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur lame en verre propre, puis à l'aide d'une anse de platine stérile, apporter un prélèvement bactérien de la colonie à identifier et la dissocier dans la goutte d'eau physiologique, ensuite recouvrir la lame par une lamelle en évitant la formation de bulles d'air, l'observation est réalisée au microscope optique à l'objectif (x40) (**Singleton, 2005**).

Observation après coloration de Gram : Cette technique est l'une des méthodes de coloration la plus utile, elle permet de diviser les bactéries en deux grands groupes ; les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative (**Tortora et al., 2003**). Après fixation du frottis les bactéries qui sont déposées sur une lame de microscope sont traitées par une solution de violet de gentiane (ou cristal violet). Ce colorant se fixe sur tous les éléments du cytoplasme des bactéries; puis la coloration est fixée par une solution de lugol (solution iodo-iodurée composée d'iode et d'iodure de potassium); puis un traitement à l'alcool qui décolore le cytoplasme des bactéries Gram négatif. En effet leur paroi est pauvre en peptidoglycane, l'alcool diffuse avec la coloration à travers la membrane, à l'opposé des germes Gram positif dont la paroi est épaisse et imperméable à l'alcool; finalement une contre-coloration est réalisée afin de mieux visualiser au microscope. Pour cela une solution de safranine ou de fuchsine est utilisée afin de colorer en rose les éléments des germes Gram négatif alors que les germes Gram positif conservent la coloration violette assez foncée (**Barret, 2022**).

#### III.4.2. Etude biochimique

##### ➤ Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Sur une lame propre déposé une colonie isolée à partir d'une boîte puis à l'aide d'une pipette pasteur ajoutée une goutte d'eau oxygénée à 10V (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). L'observation du résultat est immédiate, après l'addition d'eau oxygénée, lorsqu'on observe un dégagement gazeux cela signifie la présence de l'enzyme catalase. Par contre l'absence du dégagement gazeux signifie l'absence de l'enzyme (**Mahmoudi et Mameche, 2019**).

Ce test microbiologique constitue un test clé dans l'identification des bactéries lactiques.

#### ➤ **Conservation des isolats**

Tous les isolats qui sont à coloration de Gram positive et catalase négatives ont été ensemencés sur gélose MRS incliné. Après incubation à 37°C pendant 18 heures en anaérobiose, ces cultures ont été conservées à + 4°C. Les repiquages des cultures se fait tous les trois semaines (**Saidi et al., 2002**). Ainsi qu'une conservation à -80°C dans un MRS-glycérol à 30% a été effectuée.

#### ➤ **Recherche du nitrate réductase**

Ce test a été effectué pour savoir si les isolats produisent l'enzyme nitrate réductase qui serve à réduire le nitrate en nitrite. Donc cette technique a été réalisée par un ensemencement d'une culture jeune de 18h d'incubation à 37°C dans un bouillon nitraté (bouillon nutritif supplémenté de 1,5% de nitrates de potassium). L'apparition d'une coloration rose fugace après une addition de 3 gouttes d'une solution d'acide sulfanilique (Griess A) et 3 gouttes d'une solution de naphtylamine (Griess B) ou si aucune modification de coloration n'est visible après l'addition de poudre de zinc signifie dans les deux cas la présence de nitrate réductase (**François et al., 2011**).

### **III.4.3. Etude physiologique**

#### ➤ **Croissance à 45°C**

50 µl d'une culture jeune des lactobacilles ont été inoculés dans des tubes à 5 ml de MRSB additionné d'un indicateur coloré de pH « le pourpre de bromocrésol » à 0,05 g/l pour être, incubés à 45°C pendant 7 jours en condition anaérobique. La croissance cellulaire dans chacune des températures a été marquée positive par un changement de couleur pourpre au jaune.

#### ➤ **Production de gaz à partir de glucose**

Pour le but de déterminer si les isolats sont homofermentaires ou hétérofermentaires, 50 µl d'une culture de lactobacilles de 18h à 37°C ont été inoculés dans des tubes avec des cloches de Durham inversés contenant 5 ml MRSB dépourvus de citrate pour être incubés en

37°C pendant 5 jours en anaérobiose. L'apparition de gaz dans les cloches de Durham signifie que les isolats fermentent le glucose avec production de gaz.

➤ **Croissance à 4% et 6,5% du NaCl**

Test d'évaluation de la tolérance des souches au sel pour le but de déterminer leur capacité à survivre et se multiplier dans des environnements avec différentes concentrations de sel. Pour le faire, des tubes contenant 5 ml MRS bouillon additionné de 0,05 g/l d'un indicateur coloré de pH « le pourpre de bromocrésol » et de deux concentrations 4 % et 6,5% de NaCl ont été inoculés avec 1% d'une culture jeune des lactobacilles, puis incubés à 37°C pendant 7 jours en condition anaérobiques, la croissance bactérienne sera confirmée par un virage de couleur de pourpre au jaune.

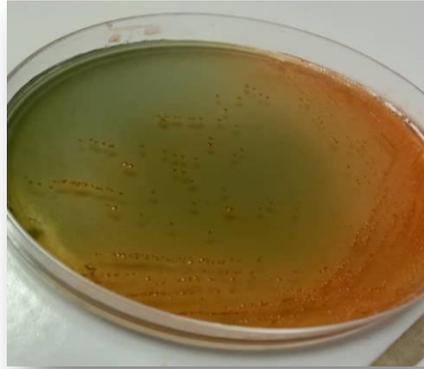
➤ **Test de fermentation des carbohydrates**

Afin de définir les sucres fermentés par les isolats des lactobacilles, le test de fermentation des carbohydrates par la méthode de **Mirlohi et al. (2008)** a été effectué. Pour le faire, 50 µl d'une culture jeune des lactobacilles ont été inoculés dans 5 ml de MRSB modifié (sans glucose et extrait de viande) additionnés de 0,05 g/l de pourpre de bromocrésol un indicateur coloré de pH, et additionné de 1% des glucides suivants : D-lactose, D-saccharose, D- maltose, L- rhamnose puis incubés en 37°C pendant 24 h en anaérobiose. Le changement de couleur de pourpre au jaune indique une croissance.

### **III.5. L'origine des agents infectieux**

Les germes ont été collectés à partir de deux origines, des souches de référence et autres cliniques isolées à partir des femmes présentant des infections génitales.

- *Escherichia coli* (**figure 11**): Souche « E<sub>1</sub> » ATTC25922 fourni par le laboratoire de Microbiologie dans la faculté de médecine vétérinaire à l'université de Mustafa Kamel, Antakya-Turquie.

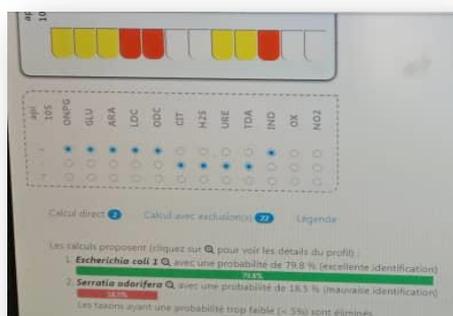


**Figure 11** : Aspect macroscopique d'*E. coli* « E<sub>1</sub> » sur milieu Hektoen

➤ *Escherichia coli* (**figure 12**) : Un isolat clinique « E<sub>2</sub> » isolé à partir d'une femme en âge reproductif sans antécédent d'infection vaginale et qui n'a pas pris de traitement antibiotique, qui prend des contraceptifs, et qui présente des symptômes d'une infection génitales. L'isolement sur milieu Hektoen puis l'identification par Galerie API 10S (**figure 13**) ont été effectués au niveau de laboratoire privée Dr CHAIBE-DRAA Aïn-Tedeles, W Mostaganem.



**Figure 12** : Aspect macroscopique d'*E. coli* « E<sub>2</sub> » sur milieu Hektoen.



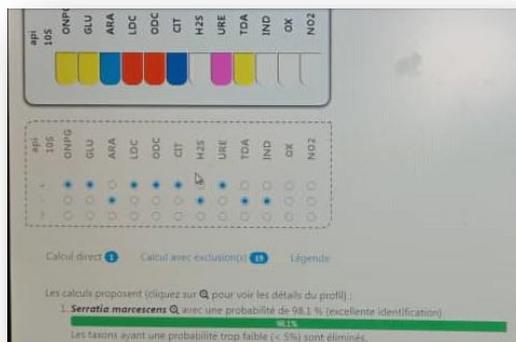
**Figure 13** : Identification d'*E. coli* « E<sub>2</sub> » par la Galerie API 10S.

➤ *Serratia fonticola* : Un isolat « S<sub>1</sub> » d'une femme qui présente une infection génitale, collectée auprès de laboratoire de bactériologie de l'EPH Aïn-Tedeles, W. Mostaganem.

➤ *Serratia marcescens* (**figure 14**) : Un isolat clinique « S<sub>2</sub> » isolé à partir d'une femme en âge reproductif qui prend des contraceptifs avec l'antécédent d'infection vaginale, et qui présente des symptômes d'une infection génitale sans prise d'un traitement d'antibiotique. L'isolement sur milieu Hektoen puis l'identification sur Galerie API 10S (**figure 15**) ont été effectués au niveau de laboratoire Dr CHAIBE-DRAA Aïn-Tedeles, W. Mostaganem.

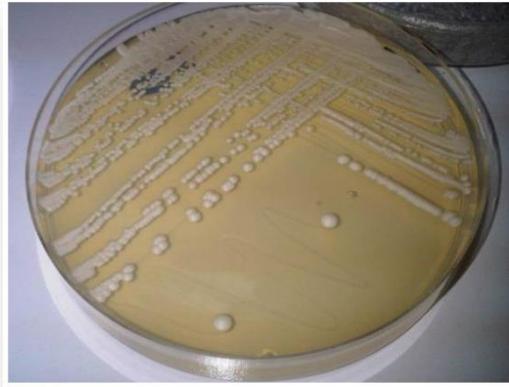


**Figure 14** : Aspect macroscopique de *S. marcescens* « S<sub>2</sub> » sur milieu hektoen.



**Figure 15** : Identification de *S. marcescens* « S<sub>2</sub> » par la Galerie API 10S

➤ *Candida albicans* (**figure 16**) : Un isolat « C<sub>1</sub> » d'une femme présente une infection génitale, collectés auprès de laboratoire de bactériologie de l'EPH Aïn-Tedeles, W. Mostaganem (**Bechelaghem, 2015**).



**Figure 16:** Aspect macroscopique de *C. albicans* « C<sub>1</sub> » sur milieu (Sabouraud+ chloramphénicol).

➤ *Candida albicans* : Un isolat clinique « C<sub>2</sub> » d'une femme au début de la ménopause avec l'antécédent d'infection vaginale, qui prend des contraceptifs et un traitement hormonal, et qui présente des symptômes d'une infection génitale. La souche a été isolée sur milieu Sabouraud au niveau de laboratoire Dr CHAIBE-DRAA Aïn-Tedeles, W. Mostaganem.

➤ *Candida albicans* (**figure 17**) : Un isolat « C<sub>3</sub> » d'une femme en âge reproductif avec l'antécédent d'infection vaginale, qui prend des contraceptifs, et qui ne présente aucun symptôme d'infection génitale. La souche à été isolée sur milieu Sabouraud au niveau de laboratoire microbiologie 3 de l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem site ex ITA.



**Figure 17 :** Aspect macroscopique de *C. albicans* « C<sub>3</sub> » sur milieu Sabouraud

### III.6. Détermination de l'activité antimicrobienne des lactobacilles

Deux techniques ont été réalisées afin de trouver le meilleur protocole pour l'étude de l'activité antimicrobienne des lactobacilles.

#### III.6.1. Méthode de double gélose (spot-on-lawn method)

Pour tester l'effet des lactobacilles isolés sur les bactéries pathogènes, la méthode de double gélose (spot-on-lawn method) décrite par **Jacobsen *et al.* (1999)**, a été utilisée. 3µl de chaque lactobacille sous forme de spot, ont été déposés en surface d'une gélose MRS modifié contenant 0,2% de glucose et 1,2% d'agar et mises en incubation en anaérobiose pendant 24 h à 37° C. 100 µl d'une culture d'une nuit des bactéries indicatrices ont été mélangés avec 7 ml de MH-semi solide (0,7% agar), et versé dans la boîte de Pétri contenant la culture développée.

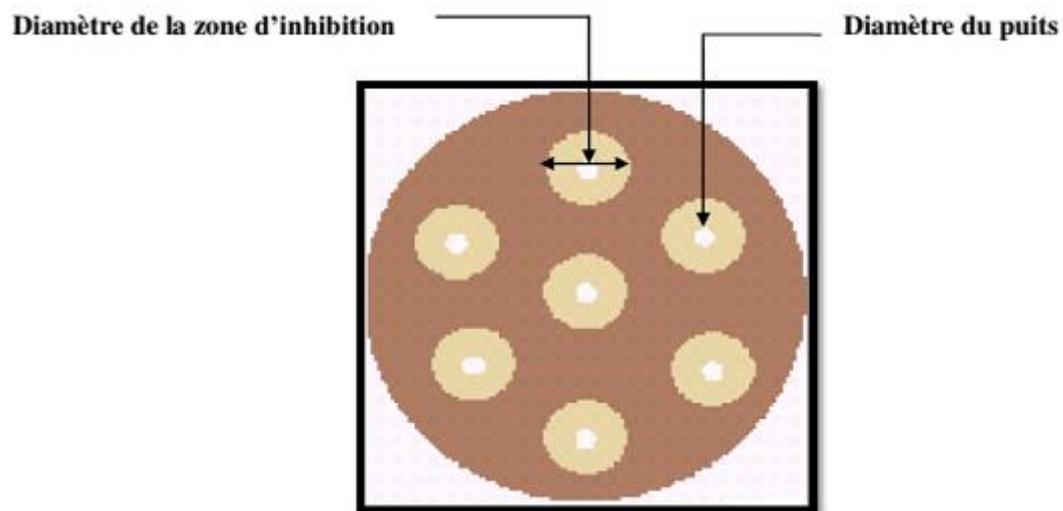
L'effet des lactobacilles contre *C. albicans* a été effectué suivant la méthode de **Fleming *et al.* (1985)**. 3µl d'une culture jeune de chaque lactobacille ont été déposés de la même façon que la première mais dans une gélose MRS normale et incubée dans des conditions anaérobiques pendant 48 h à 37°C. Une couche de 5 ml de gélose SD avec 0,75% d'agar contenant 1 ml d'une culture de *C. albicans* a été versé sur la culture de lactobacille.

L'activité des lactobacilles contre les bactéries et la levure indicatrices a été déterminée après une incubation en aérobiose à 37 °C pendant 24 h, par la mesure des zones d'inhibition.

#### III.6.2. Méthode des puits

La méthode consiste à transféré 1 ml de la souche pathogène dans des boîtes de pétri ensuite, 15 ml du milieu de culture MH solide, préalablement refroidi à 45°C, ont été versés dans chaque boîte de pétri. Pour bien mélanger l'inoculum avec le milieu de culture, des mouvements en forme de "8" ont été effectué. Des puits ont été formés à l'aide de pipette Pasteur stérile puis rempli par 100µl de chaque lactobacille à tester. Enfin les boites ont été incubées à 37°C pendant 24h.

Une inhibition est considérée positive si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 2 mm (**Thompson *et al.*, 1996**).



La mesure du diamètre d'inhibition ( $Z_i$ ) est réalisée en utilisant la formule suivante :

D1 : diamètre de la zone d'inhibition obtenue

D2: diamètre du puits

$$Z_i \text{ (mm)} = D1\text{(mm)} - D2\text{(mm)}$$

**Figure 18** : Les zones d'inhibition ( $Z_i$ ) selon la méthode des puits

# **Quatrième chapitre**

## **Résultats et discussion**

## V.1. Isolement des lactobacilles vaginaux

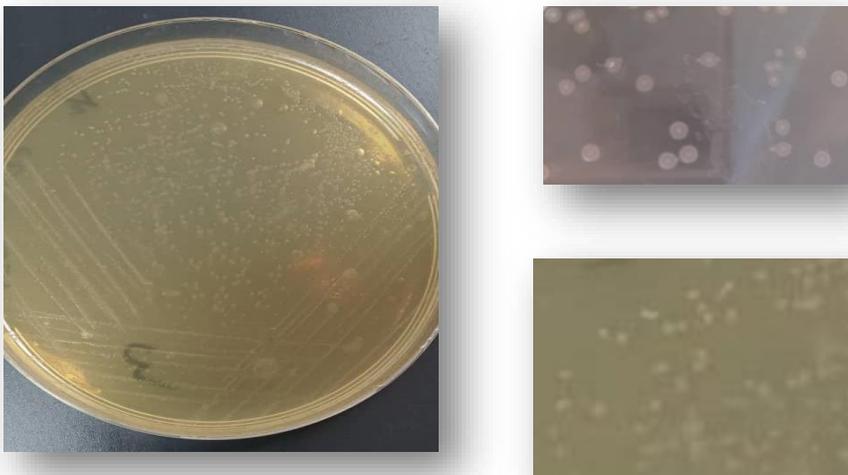
L'isolement réalisé dans le milieu MRSA à partir de 7 échantillons vaginaux a abouti à 8 isolats qui semblent être des lactobacilles

## V.2. Identification des isolats

### V.2.1. Etude morphologique

#### ❖ Examen macroscopique

L'observation macroscopique des isolats réalisée sur milieu MRS a montré des colonies de différentes formes (**figure 19**).



**Figure 19** : Observation macroscopique des différentes colonies des lactobacilles sur milieu MRSA.

#### ❖ Examen microscopique

Observation microscopique indique que les isolats sont des bacilles ou coccobacilles à coloration de Gram positive (**figure 20**).



**Figure 20**: Observation microscopique des cellules de lactobacilles après coloration de Gram.

Selon **Dasari et al. (2014)** l'observation macroscopique des lactobacilles a montré que les colonies sur milieu MRSA, sont de petite taille et de couleur blanchâtre à beige avec un aspect qui se diffère d'une forme à une autre. Tandis que l'observation microscopique a montré que toutes les cellules de lactobacilles sont immobiles, bacilles ou des coccobacilles à coloration de Gram positive ce qui correspond à nos résultats.

### V.2.2. Etude biochimiques et physiologiques

Les résultats des différents tests réalisés se varient d'une souche à une autre d'un résultat positive, faiblement positive ou négative (**figure 21, 22, 23 et tableau 4**).



**Figure 21:** Résultat négative de nitrate réductase



**Figure 22:** Résultat positive de la production de gaz par fermentation de glucose.



**Figure 23:** Résultat positive de la croissance bactérienne à 45°C.

**Tableau 4 :** Tests d'identification phénotypiques de chaque souche.

Souche N°	1A	1B	2	3	4	5	6	7	LGG	L <sub>23-1</sub>
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 4%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 45°C	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f
Production de gaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(f) : faiblement positive ; (-) : négative ; (+) : positive.

Les résultats obtenus montrent que toutes les isolats étudiés sont catalase négative ce qui signifie qu'elles ne possèdent pas l'enzyme catalase responsable de la décomposition de peroxyde d'hydrogène.

Ces isolats ont un nitrate réductase négative, confirmé par le virage de couleur du jaune vers le rouge après l'addition de chacun des réactives Griess A et Griess B ça signifie qu'elles ne peuvent pas réduire le nitrate en nitrite.

Concernant le test de la production de gaz à partir de glucose en utilisant les cloches de Durham, un dégagement de gaz par les isolats a été remarqué, ce que signifié que tous ces isolats arrivent à fermenter le glucose de manière hétérofermentaire, et selon **Stiles et Holzapfe (1997)** le genre *Lactobacillus* est subdivisé en trois groupes distincts basés sur les voies de fermentation des glucides.

Group 1 : ce sont les espèces homofermentaires obligatoires qui fermentent les hexoses presque entièrement en acide lactique. Elles sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate.

Group 2 : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives qui fermentent soit les hexoses presque entièrement en acide lactique et dans des conditions limitant le glucose, ou fermentent les hexoses en acide lactique, acide acétique, éthanol et acide formique; les pentoses sont fermentés en acide lactique et acide acétique.

Group 3 : il comprend les espèces hétérofermentaires obligatoires qui fermentent les hexoses en acide lactique, CO<sub>2</sub>, acide acétique et/ou éthanol ; les pentoses sont fermentés en acide lactique et acide acétique (**tableau 5**).

Toutes les isolats étudiés appartiennent soit au groupe 2 ou au groupe 3.

**Tableau 5:** Les principales divisions au sein du genre *Lactobacillus* basées sur les caractéristiques phénotypiques (**Stiles et Holzapfe, 1997**).

Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Homofermentaires Obligatoires	Hétérofermentaires Facultatives	Hétérofermentaires Obligatoires
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. acetotolerans</i>	<i>Lb. brevis</i>
<i>Lb. ormylophilus</i>	<i>Lh. agilis</i>	<i>Lb. buchnevi</i>
<i>Lb. aviarus</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Lb. collinoides</i>
<i>Subsp. araffinosus</i>	<i>Lb. bifementans</i>	<i>Lb. fermentum</i>
<i>Subsp. aviarus</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. fructivorans</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lb. coryniformis</i>	<i>Lb. fructosus</i>
<i>Subsp. bulgaauicus</i>	<i>Subsp. coryniformis</i>	<i>Lb. hilgardii</i>
<i>Subsp. lactis</i>	<i>Subsp. coryniformis</i>	<i>Lb. kefir</i>
<i>Lb. farciminis</i>	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. malefermentans</i>
<i>Lb. gallinarum</i>	<i>Lb. graminis</i>	<i>Lb. oris</i>
<i>Lb. gasseri</i>	<i>Lb. hamsteri</i>	<i>Lb. punis</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. homohiochii</i>	<i>Lb. parabuchneri</i>
<i>Lb. jensenii</i>	<i>Lb. intestinalis</i>	<i>Lb. parakefir</i>
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Lb. murinus</i>	<i>Lb. pontis</i>
<i>Lb. kefirano-faciens</i>	<i>Lb. paracasei</i>	<i>Lb. reuteri</i>
<i>Lb. kefirgranum</i>	<i>Subsp. tolerans</i>	<i>Lb. sanfrancisco</i>
<i>Lb. mali</i>	<i>Lb. paraplantarum</i>	<i>Lb. suebicus</i>
<i>Ln. ruminis</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Lb. vaccino-stercus</i>
<i>Lb. salivarius</i>	<i>Lb. planturium</i>	<i>Lb. Ragonalis</i>
<i>Lb. sharpeae</i>	<i>Lb. rhamnosus</i>	
	<i>Lb. sake</i>	

Par ailleurs, pour le test de la croissance à 45°C les résultats montrent que toutes les souches ont la capacité à croître à une température de 45°C ça signifie qu'elles sont thermotolérantes, selon **Pot et al. (2014)** les lactobacilles ont une température de croissance optimale souvent comprise entre 30°C et 40°C bien que la température générale de croissance peut varier de 2°C à 53°C.

Pour la croissance à 4 % et 6,5 % du NaCl, les résultats indiquent que tous les isolats ont la capacité de tolérer des concentrations élevées de sel par un changement de couleur du pourpre au jaune ce qui confirme que sont tous osmotolérants.

L'étude de la tolérance des souches aux concentrations élevées de NaCl est importante car c'est un facteur physique parmi les principaux critères pour la sélection des souches à potentiel probiotiques de l'écosystème vaginal (**Cheriet et al., 2022**).

➤ **Test de fermentation des carbohydrates**

**Figure 24 et tableau 6** montrent les résultats de la fermentation des sucres suivants :

D-lactose, D-saccharose, D- maltose, L- rhamnose



**Figure 24** : Résultat positive de la fermentation de lactose.

**Tableau 6** : résultats de fermentation des glucides pour chaque isolat.

Isolat N°	1A	1B	2	3	4	5	6	7	LGG	L <sub>23-1</sub>
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	f	f	f	f	f	f	f	+	+
Maltose	f	f	f	f	f	f	f	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(f) : faiblement positive ; (-) : négative ; (+) : positive.

Pour le test de la fermentation des carbohydrates, les isolats ont été classés en 4 groupes : **G1** : (A1); **G2**: (1B, 2, 3, 4, 5, 6) ; **G3** : (7) ; **G4** : (LGG, L<sub>23-1</sub>).

**Groupe 1** : comprend l'isolat 1A, qui fermente le lactose, fermente faiblement le maltose mais ne fermente pas le saccharose et le rhamnose.

**Groupe 2** : comprend les isolats 1B, 2, 3, 4, 5, 6 fermentent le lactose, fermente faiblement le maltose et saccharose mais ne fermentent pas le saccharose et le rhamnose.

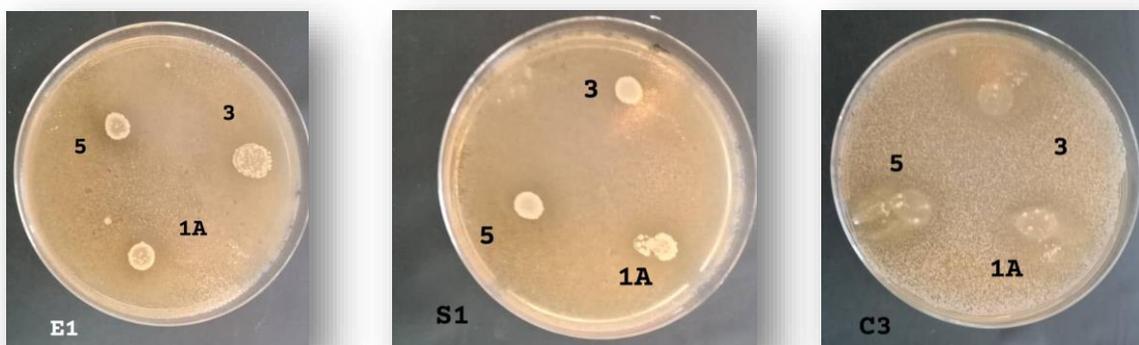
**Groupe 3** : comprend l'isolat 7, fermente le lactose, fermente faiblement le saccharose mais ne fermente pas le maltose et le rhamnose.

**Groupe 4** : comprend les souches LGG et L<sub>23-1</sub>, fermentent le lactose et le saccharose mais ne fermente pas le maltose et le rhamnose.

### V.3. Détermination de l'activité antimicrobienne des lactobacilles

#### V.3.1. Méthode de double gélose (spot-on-lawn method)

Les résultats de l'effet inhibiteur des lactobacilles vaginaux *in vitro* sont exprimés par l'apparition d'un halo, pour la méthode de double gélose l'halo n'était pas bien visible (**figure 25**).



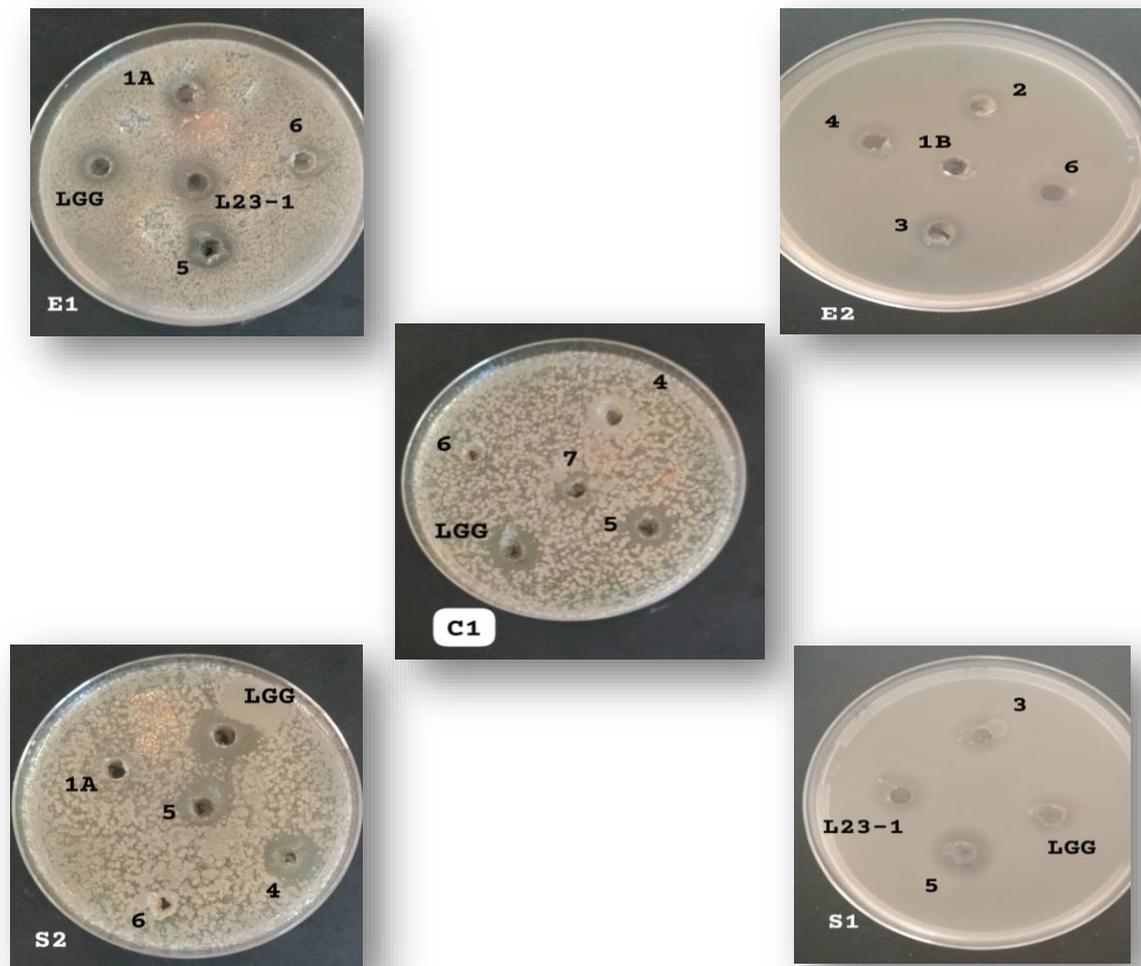
**Figure 25** : l'activité antimicrobienne des lactobacilles par méthode de double gélose.

#### V.3.2. Méthode des puits

Les résultats de l'effet inhibiteur des lactobacilles vaginaux *in vitro* sur les germes infectieuses sont montrés dans la **figure 26 et 27** et exprimés par l'apparition d'un halo clair, la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (Zi) a été effectuée. La plus grande zone remarquée est obtenue par notre isolat 5 contre S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub> (**tableau 7**). Et pour l'effet des lactobacilles sur *C. albicans* une plus grande zone remarquée est obtenue par 1A contre C1 et l'isolat 6 contre C3 (**tableau 8 et figure 28**).

**Tableau 7 :** Les zones d'inhibition en mm des lactobacilles contre les bactéries infectieuses.

Isolats	1A	1B	2	3	4	5	6	7	LGG	L <sub>23-1</sub>
E <sub>1</sub>	5	2	2	3	3	7,3	4	4	5	6
E <sub>2</sub>	6	1	1,5	3,5	2,5	7	1	5,5	8	6
S <sub>1</sub>	4	6	4	4,5	3	9	0,7	5	6,5	7
S <sub>2</sub>	2	5	3,5	2,5	6	9	0,3	5	11	3



**Figure 26 :** l'activité antimicrobienne des lactobacilles sur les germes infectieux

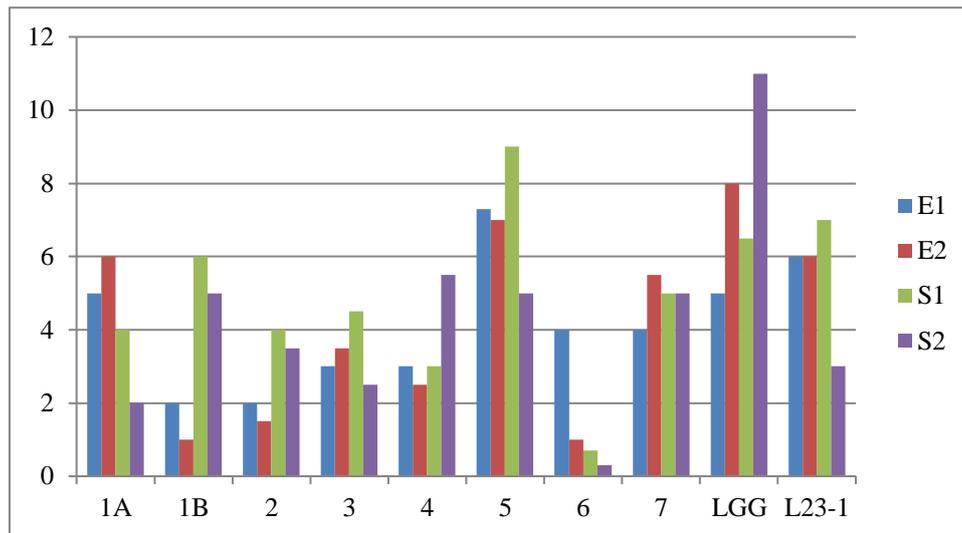


Figure 27: Effet antagoniste des lactobacilles vis-à-vis les bactéries infectieuses.

Tableau 8 : Les zones d’inhibition en mm des lactobacilles contre les 3 isolats de *C.albicans*

Isolats	1A	1B	2	3	4	5	6	7	LGG	L <sub>23-1</sub>
C <sub>1</sub>	7	0	0	2	0	5	1,5	4	5	6
C <sub>2</sub>	2	3	3	2	2	4	2	0	4	0
C <sub>3</sub>	3	1	0	3	3	7	4	3	9	3

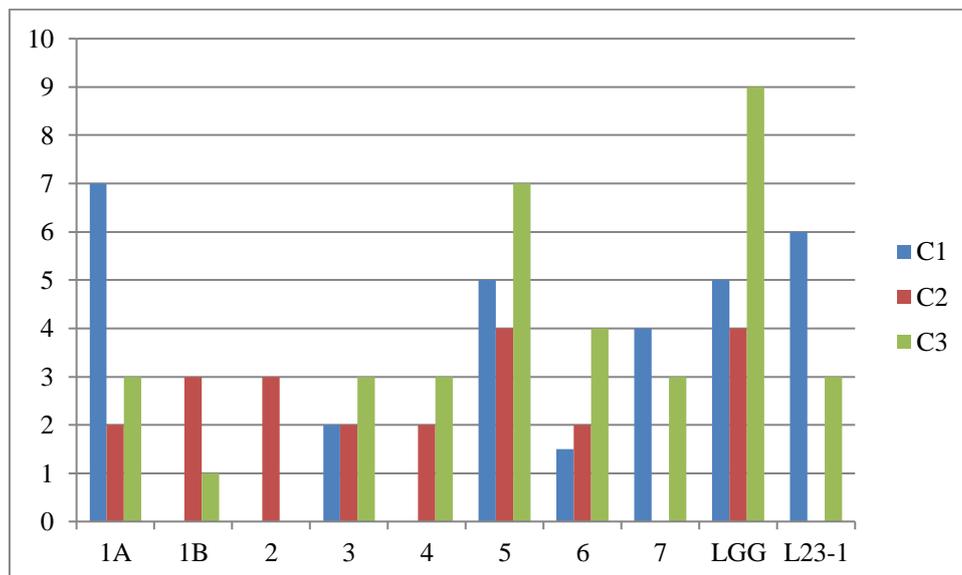


Figure 28: Effet antagoniste des lactobacilles vis-à-vis les trois isolats de *C.albicans*

Le test d'antagonisme réalisé *in vitro* par les 8 lactobacilles isolés vis-à-vis les 4 germes pathogènes causant des infections génitales à savoir *C. albicans*, *S. marcescens*, *S. fonticola* et *E. coli*, par deux différentes techniques ; la méthode de double gélose (spot-on-lawn method), et la méthode des puits, afin de trouver le meilleur protocole pour l'étude de l'activité antimicrobienne de ces lactobacilles. D'après les résultats l'effet inhibiteur était plus clair et plus mesurable par la technique de puits que par la technique de double gélose.

Concernant l'étude de l'activité antagoniste des lactobacilles contre *Escherichia coli* « E<sub>1</sub> » et « E<sub>2</sub> », les résultats montrent que les isolats 1B, 2, 3, 4 et 6 ont un effet très faible et les isolats 1A et 7 ont un effet notable. Cependant, l'isolat 5 possède un effet remarquable proche de celle de la souche témoin LGG et elle est plus performante que la souche L<sub>23-1</sub>.

D'autre côté, l'étude de l'activité antagoniste des lactobacilles sur les deux souches de *S. fonticola* « S<sub>1</sub> » et *S. marcescens* « S<sub>2</sub> », se démarque l'isolat 6 par un effet très faible comparant aux majorités des isolats (1A, 1B, 2, 3, 4 et 7) qui ont un effet notable. Contrairement à l'isolat 5 qui possède un effet très fort en comparant avec la souche probiotique LGG et encore plus performante que la souche L<sub>23-1</sub>.

Pour l'étude de l'activité antagoniste de lactobacilles vis-à-vis les 3 isolats de *C. albicans*, nous avons remarqué que les isolats 1B, 2 et 4 ne possèdent aucun effet sur « C<sub>1</sub> », pour l'isolat 7 et L<sub>23-1</sub> ne présentent pas un effet sur « C<sub>2</sub> », le meilleur effet a été obtenu par l'isolat 5 sur contre C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub>, les résultats sont proche à celle de LGG.

À partir de 8 isolats étudiés, seulement un isolat a un large spectre d'activité antimicrobienne contre les 4 germes testés avec des grandes zones d'inhibitions c'est l'isolat 5 avec un halo entre (7 ou 7.3mm) contre *E. coli*, 9mm contre *S. fonticola* « S<sub>1</sub> » et *S. marcescens* « S<sub>2</sub> », et de (5, 4, 7mm) contre « C<sub>1</sub> », « C<sub>2</sub> » et « C<sub>3</sub> » respectivement.

Cet isolat a un effet antagoniste proche à celle de la souche probiotique LGG contre tous les germes infectieux testés.

Selon **Aslim et Kilic, (2006)**, parmi 58 isolats seulement 10 souches inhibées toutes les bactéries testées. Donc pas toutes les souches isolées à partir des vagins des femmes saines en âge reproductives, ont la capacité d'inhiber la croissance des germes pathogènes.

Selon **Liza et al. (2017)**. L'activité antimicrobienne des 44 souches de *Lactobacillus* récupérées a été testée contre *E. coli* 6E2, *S. aureus* 7S3, *Enterococcus* 5En8 et *C. albicans* C1, utilisés comme organismes indicateurs en fonction de leurs propriétés d'adhésion et hémolytiques. La majorité des souches de *Lactobacillus* (84%) ont montré une activité antimicrobienne contre au moins une des souches cibles et 70% ont affiché une activité contre

toutes les souches cibles. L'antagonisme a été observé pour 82% des souches contre *E. coli*, 70% contre *S. aureus*, et 72% contre *Enterococcus sp.* L'activité anti- *C. albicans* C1 a été observée pour 70% des souches de *Lactobacillus* testées. Toutes les souches avec une activité antifongique ont également montré une activité antibactérienne. Le plus grand diamètre a été enregistré pour *Lactobacillus* 4LB8 contre *C. albicans* C1 et *Lb. fermentum* 4LB11 contre *S. aureus* 7S3. Il est à noter que les 2 souches avec le plus grand antagonisme font partie des 16 souches récupérées de l'échantillon W4, une femme consultant pour un fibrome sans aucune infection microbienne. Remarquablement, toutes les souches dépourvues d'antagonisme proviennent de l'échantillon W5 (femme avec vaginose), représentant ainsi 50% de ce groupe. La souche ayant l'activité la moins importante fait partie de ce groupe et est la seule souche avec un pouvoir antimicrobien contre les 4 souches pathogènes. Toutes les souches de l'échantillon W9 ont une activité antimicrobienne sur les 4 souches pathogènes testées sauf *Lb. fermentum* 9LB5 qui n'était pas actif contre les souches de *S. aureus* et *Enterococcus* et *Lb. fermentum* 9LB8 qui manque d'activité antifongique. Enfin, toutes les souches ayant une activité antimicrobienne sur les 4 souches pathogènes testées appartiennent à l'échantillon W10 (femme en bonne santé). Ces observations peuvent indiquer le rôle protecteur des lactobacilles dans le microbiote vaginal normal et leur inefficacité en cas de dysbiose.

**Rossi et al. (2010)**, ont évalué l'efficacité d'un traitement intravaginal à long terme (24 mois) avec *Lactobacillus rhamnosus* sur le pH vaginal et sur les symptômes cliniques dans un groupe de 40 femmes affectées par la VB, diagnostiquées selon les critères d'Amsel. Ils montrent que l'administration à long terme de comprimés vaginaux contenant *L. rhamnosus* représente un traitement efficace et sûr pour restaurer le pH vaginal physiologique et contrôler les symptômes de la VB. *L. rhamnosus* GR-1 a été identifié comme le meilleur parmi un groupe de 34 souches de *Lactobacillus*.

Les résultats de certains essais cliniques supportent l'efficacité de certaines souches de lactobacilles telles que *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GR-1 et *L. fermentum* RC-14 administrés soit oralement, soit par voie vaginale. Ces derniers permettraient une colonisation du vagin et /ou la prévention de la colonisation et de l'infection par *C. albicans* (**Faure, 2013 ; Marion, 2018**). Dans leur étude, ils ont observé une population à haut risque de développer des récurrences de VB recevant *L. rhamnosus* pendant une période de six mois. 57,1% des patientes traitées avec Normogin® n'ont pas eu de récurrence pendant la période de suivi, tandis que 42,9% ont présenté un ou plusieurs épisodes de VB.

# ***Conclusion***

# Conclusion

Le vagin des femmes est un écosystème dynamique complexe composé des éléments biotiques et abiotiques, ce qui peut favoriser facilement la croissance de plusieurs germes opportunistes, qui prennent l'occasion de se développer après un changement des facteurs physiques, hormonaux et pathologiques influant sur le rôle de la flore normale protectrice représenté par les lactobacilles, et favorise l'apparition de multiples infections génitales provoquant une dysbiose. Les lactobacilles vaginaux entant que probiotiques ou ses métabolites « postbiotiques » sont connus par son effet préventif et curatif des troubles vaginaux afin d'établir une eubiose vaginale.

L'objectif de ce travail consiste à étudier *in vitro* l'activité antimicrobienne des lactobacilles vaginaux d'origine humaine isolés à partir des femmes saines et en âge de reproduction contre des germes causant des infections génitales chez la femme afin de sélectionner une souche avec une meilleure capacité antagoniste ce qui ouvre la porte à cet important enjeu de santé publique.

L'isolement et la purification effectués sur le milieu MRS de 7 échantillons vaginaux à partir de différentes femmes a permis d'obtenir 8 isolats qui semblent être des lactobacilles. La réalisation des tests phénotypiques ; morphologiques et biochimiques nous a permis de confirmer que tous les isolats ont des caractéristiques communs qui sont les caractères généraux des lactobacilles, telle que la coloration de Gram positive, catalase et nitrate réductase négatives négative et aussi la capacité osmotolérante et thermotolérante. D'autres tests ont été réalisés afin de différencier les souches isolées ce sont les caractères spécifiques à l'espèce telle que la forme de la cellule bactérienne et la capacité de fermentation des différents glucides.

Le test d'antagonisme réalisé *in vitro* par les 8 lactobacilles isolés vis-à-vis les 4 germes pathogènes causant des infections génitales à savoir *C. albicans*, *S. marcescens*, *S. fonticola* et *E. coli*, par deux différentes techniques ; la méthode de double gélose (spot-on-lawn method), et la méthode des puits, afin de trouver le meilleur protocole pour l'étude de l'activité antimicrobienne de ces lactobacilles. D'après les résultats l'effet inhibiteur était plus clair et plus mesurable par la technique des puits que par la technique de double gélose.

Pas tous les isolats de lactobacilles, ont la capacité d'inhiber la croissance des germes pathogènes, dont les isolats 1B, 2, 3 et 4 ont un effet très faible sur les bactéries infectieuses.

Les isolats 1B, 2 et 4 ne possèdent aucun effet inhibiteur sur *C. albicans* « C<sub>1</sub> », tandis que l'isolat 7 et L<sub>23-1</sub> n'ont aucun effet antagoniste sur « C<sub>2</sub> ».

À partir de 8 isolats étudiés, seulement un isolat a un large spectre d'activité antimicrobienne contre les 4 germes testés avec des grandes zones d'inhibitions c'est l'isolat 5 avec un halo entre (7 ou 7,3 mm) contre *E. coli*, 9mm contre *S. fonticola* « S<sub>1</sub> » et *S. marcescens* « S<sub>2</sub> », et de (5, 4,7 mm) contre « C<sub>1</sub> », « C<sub>2</sub> » et « C<sub>3</sub> » respectivement. Cet isolat a un effet antagoniste proche à celle de la souche probiotique LGG contre tous les germes infectieux testés.

En perspective, nos travaux méritent d'être consolidés par d'autres études *in vitro* et *in vivo* de l'activité probiotique de l'isolat de lactobacille sélectionné. L'avenir des lactobacilles à potentiel probiotique ou postbiotiques au sein de l'écosystème vaginal est donc prometteur pour aider les femmes souffrant de la dysbiose à rétablir une eubiose vaginale.

**Références**  
**bibliographiques**

## Références bibliographiques

- **Abdi, H., & Williams, L. J.** (2010). Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), 433-459.
- **Afouda ,P., Fournier ,P.E., Raoult, D., Merhej ,V.** (2017) *Lactobacillus timonensis'* sp. nov, a new bacterial species isolated from the human gut. *N Microbes N Infect.* 19:121–2.
- **AFSSA** (Agence française de sécurité sanitaire des aliments). (2005). *Rapport d'activité 2005*. Paris: AFSSA. Available at: [AFSSA Report 2005 \(Institut International du Froid \(IIF\) \(Knowledge4Policy\)](#).
- **Aguilar-Toalá, J. E.,** Santiago-López, L., Peres, C. M., Peres, C., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., ... & Hernández-Mendoza, A. (2018). Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24(2), 267-279.
- **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.
- **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.
- **Amabebe, E.,** Anumba, D.O.C. (2018). The Vaginal Microenvironment : The Physiologic Role of *Lactobacilli*. *Front Med.* 5 :181.
- **Amouri, I.,** Sellami, H., Borji, N., Abbes, S., Sellami, A., Cheikhrouhou, F., ... & Ayadi, A. (2010). La candidose vulvo-vaginale: revue. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(1), 1-9.
- **Andreas, V.,** Baud, D., & Jacot-Guillarmod, M. (2020). Flore vaginale et infections génitales : un équilibre fragile. *Revue Médicale Suisse*, 16(712), 2148-2153. Disponible sur : <https://www.revmed.ch/RMS/2020/RMS-N-712/Flore-vaginale-et-infections-genitales-un-equilibre-fragile> consulté le 26 /01/2024 .Consultée le : 13/02/2024.

- **Aroutcheva, A.,** Gariti, D., Simon, M., Shott, S., Faro, J., Simoes, J.A., Gurguis ,A., Faro, S. (2001). Defense factors of vaginal *lactobacilli*. *Am J Obstet Gynecol.*, 185:375 -9.
- **Aslim, B., & Kilic, E.** (2006). Some probiotic properties of vaginal lactobacilli isolated from healthy women. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 59(4), 249-253.
- **Aude, C.** (2016). Intérêt de l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux, France.
- **Augait K.** (2016). Les maladies inflammatoires pelviennes. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Lille 2. P (13-14-45-47)
- **Barrientos-Durán, A.,** Fuentes-López, A., de Salazar, A., Plaza-Díaz, J., García, F. (2020). Reviewing The Composition of Vaginal Microbiota : Inclusion of Nutrition and Probiotic Factors in the maintenance of Eubiosis. *Nutrients*. 12(2) :419.
- **Beaudry, P., & Green, D. A.** (2008). "Wages and Employment in the United States and Germany: What Explains the Differences?" *American Economic Review*, 98(4), 1384-1417.
- **Bechelaghem N** (2017). Etude des Lactobacillus vaginaux : Identification, effets protecteurs, Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Biologie, UNIVERSITE DE ABDELHAMID IBN BADIS-MOSTAGANEM
- **Bechelaghem, N.,** Djibaoui, R., Ettalhi, M, Arabi, A. (2015). Diagnosis of a chronic vaginitis: Characterization of *Candida albicans* and in vitro antagonistic activities of vaginal Lactobacillus. *South Asian Journal Experimental Biology*, 5(4): 143-150.
- **Belkhane, K., et al.** (2016). Caractéristiques cliniques et microbiologiques des vaginites infectieuses à Alger. *Journal Algérien de Microbiologie*, 1(2), 45-52.
- **Bergal, J.** (2016). "States Are Now Banning Employers From Asking About Salary History." *The Pew Charitable Trusts*.
- **Bergogne-Bérézin,E.** (2007). Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. *Antibiotiques*. 44-139
- **Berrokia, K.** (2020). Effet des lactobacilles vaginaux (*L.reteuri* et *L.salivarius*) sur les germes causant des infections génitales chez la femme et leur pouvoir de produire l'acide lactique et la détection de bactériocine. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme Master en Sciences Biologiques. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. P (5).

- **Bohbot, J.M.** (2007). Rôle de l'hygiène intime dans la prévention des désordres génitosexuels. *Genesis*,121, 2-5.
- **Borgdorff, H;** Gautam, R; Armstrong, S.D; Xia, D; Ndayisaba, G.F; Van Teijlingen ,N.H.(2016). Cervicovaginal microbiome dysbiosis is associated with proteome changes related to alterations of the cervicovaginal mucosal barrier. *Mucosal Immunology*. 9(3):621-33
- **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.
- **Bron, P.A.,** Tomita, S., Mercenier, A., Kleerebezem, M. (2013). Cell surface-associated compounds of probiotic lactobacilli sustain the strain-specificity dogma. *Curr Opin Microbiol*. 16:262–9.
- **Bruce, B.,** Fries, J.F., & Ramey, D.R. (1992). The Health Assessment Questionnaire 1992: Status and review. *Arthritis Care and Research*, 5(3), 119-129.
- **Call ,E.K.,** Klaenhammer, T.R. (2013). Relevance and application of sortase and sortase-dependent proteins in lactic acid bacteria. *Front Microbiol*. 4:73.
- **Castro-Bravo, N.,** Wells, J.M., Margolles, A., Ruas-Madiedo, P. (2018). Interactions of surface exopolysaccharides from *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* within the intestinal environment. *Front Microbiol*. 9:2426.
- Changement de taxonomie du genre *Lactobacille*, quelles conséquences ? Exden. 2020 Disponible sur: <https://www.exden.fr/changement-de-taxonomie-du-genre-lactobacille-quelles-consequences/> . Consultée le 20/01/2024.
- **Cheriet, F.,** Karray, F., & Ghodsi, A. (2022). Multiscale nest-site selection and breeding biology: Infrared camera monitoring of the great crested grebe *Podiceps cristatus* in a plateau freshwater lake in southwestern China. *Ornithology Research*, 70(2), 154-169.
- **Chiba, M.,** Itabashi, T., Hirai, K., Sakamoto, M., Ohkuma, M., Ishige, T., *et al.* (2018). *Lactobacillus metriopterae* sp. Nov, a novel lactic acid bacterium isolated from the gut of grasshopper *metrioptera engelhardti*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 68:1484–9.

- **Cicenia, A.**, Scirocco, A., Carabotti, M., Pallotta, L., Marignani, M., & Severi, C. (2014). Postbiotic activities of Lactobacilli-derived factors. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 48(S1), S18-S22.
- **Dahiya, D. K.**, Renuka, P., Puniya, M., Shandilya, U. K., Dhewa, T., Kumar, N., & Kumar, S. (2018). Gut microbiota modulation and its relationship with obesity using prebiotic fibers and probiotics: A review. *Frontiers in Microbiology*, 9, Article 2289.
- **Dahiya, D.K.**, Puniya, A.K. (2017). Isolation, molecular characterization and screening of indigenous Lactobacilli for their abilities to produce bioactive conjugated linoleic acid (CLA). *J Food Sci Technol*. 54:792–801.
- **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.
- **Dei, M.**, Di Maggio, F., Di Paolo, G., Bruni, V. (2010). Vulvovaginitis in childhood. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol*, 24: 129-137.
- **Deshpande, G.**, Athalye-Jape, G., Patole, S. (2018). Para-probiotics for preterm neonates—The next frontier. *Nutrients*. 10:871.
- **Doron, S.**, Snyderman, D.R. (2015). Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis*. 60:S129–34.
- **Falagas. M.**, Betsi, G.I., Athanasiou, S. (2007). Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Infect*, 13: 657-64.
- **Faure, D.** (2013). Les résultats de certains essais cliniques supportent l'efficacité de certaines souches de lactobacilles telles que *L. acidophilus*, *L. rhamnosus GR-1* et *L. fermentum RC-14* administrés soit oralement, soit par voie vaginale. Ces derniers permettraient une colonisation du vagin et/ou la prévention de la colonisation et de l'infection par *C. albicans*.
- **François, B.**, Borga, M., Anquetin, S., & Vivoni, E. R. (2011). "Physically based modeling of flash flood in Mediterranean regions." *Environmental Modelling & Software*, 26(10), 1389-1401.
- **Gaspar. C.**, Donders. G.G., Palmeira-de-Oliveira.R., Queiroz. J.A., Tomaz. C., Martinez-de-Oliveira.J ; and Palmeira-de-Oliveira. A. (2018). Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *AMB Expr*, 8:153.
- **Godha, K.**, Tucker, KM., Biehl, C., Archer, DF., Mirkin, S. (2018). Human vaginal pH and microbiota : An update. *Gynecological Endocrinology*. 34(6) :451-5.

- **Goh, Y.J.**, Klaenhammer, T.R (2010). Functional roles of aggregation-promoting-like factor in stress tolerance and adherence of *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Appl Environ Microbiol.* 76:5005–12.
- **GRATTEPANCHE, A. C. E.** (2022). Probiotiques gynécologiques en officine. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie.
- **Hammes, W. P.**, and R. F. Vogel. (1995). The genus *Lactobacillus*. In *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Wood, B.J. and W. H. Holzapfel (Eds). Chapman & Hall, London, pp. 19-54.
- **Hevia, A.**, Delgado, S., Sánchez, B., Margolles, A., & López, P. (2013). Molecular players involved in the interaction between beneficial bacteria and the immune system. *Frontiers in Microbiology*, 4, Article 128.
- **Hickey, M.W.**, Hillier, A.J., Jago G.R. (1983). Enzymatic activities associated with lactobacilli in dairy products. *Aust. J. dairy. Tech.*
- **Jamili, H.** (2010). Les Candidoses vulvo-vaginales chez la Consultante A l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat. Thèse de Doctorat en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat. Université Mohammed V. P (1-29-21).
- **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.
- **Kim, M.H.**, Choi, S.J., Il Choi, H., Choi, J.P., Park, H.K., Kim, E.K., *et al.* (2018). *Lactobacillus plantarum*-derived extracellular vesicles protect atopic dermatitis induced by *Staphylococcus aureus*-derived extracellular vesicles. *Allergy Asthma Immunol Res.*10:516–32.
- **Kleerebezem, M.**, Hols, P., Bernard, E., Rolain, T., Zhou, M., Siezen, R.J., *et al.* (2010). The extracellular biology of the Lactobacilli. *FEMS Microbiol Rev.*34:199–230.
- **Kuslovic, A.** (2023). *Microbiote humain*. Paris : Éditions du Seuil.
- *Lactobacillus*: nouveau nom pour d'anciennes connaissances. Agroscope. 2020. Disponible sur : <https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/fr/home/themen/lebensmittel/qualitaet/kaese-milch-milchprodukte/lactobacillus.html> . Consultée le 24/01/2024.

- **Lamont, R.F.**, Sobel, J.D. (2011). The vaginal microbiome : new information about genital tract flora using molecular based techniques. *International Journal of Obstetrics*. 118(5):533-49
- **Layden, B.T.**, Angueira, A.R., Brodsky, M., Durai, V., Lowe, WL Jr. (2012). Short chain fatty acids and their receptors: new metabolic targets. *Transl Res*. 161:131–40.
- **Lebeer, S.**, Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C.J. (2010). Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol*. 8:171–84.
- **Lefèvre, J. C.** (2002). Vaginose bactérienne: une altération de l'écosystème vaginal. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 31(5), 485-494.
- **Lepargneur, J. P.**, & Rousseau, S. (2002). Bacterial vaginosis: Effects on women's health and relationships. *Journal of Sexually Transmitted Diseases*, 29(2), 107-111.
- **Lepargneur, J.P.**, Rousseau, V. (2008). Rôle protecteur de la flore de Doderlein. *Journal de Gynécologie Ostétrique et Biologie de la Reproduction*. vol 31, pages 485-494.
- **Liu, Q.**, Yu, Z., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q. (2020). Surface components and metabolites of probiotics for regulation of intestinal epithelial barrier. *Microb Cell Fact*. 19:23.
- **Liza, L.**, Lin, L., Sun, D., & Gao, T. (2017). Intraspecific structure of *Liza affinis* inferred from mitochondrial cytochrome b variations. *Biology Bulletin*, 44(5), 502-510.
- **Lüllmann-Rauch, R.** (2008). *Histologie: Eine einführende Lehrbuch auf Basis der "Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen"*. Georg Thieme Verlag
- **MacPhee, R.A.**, Hummelen, R., Bisanz, J.E., Miller, W.L., Reid, G. (2010). Probiotic strategies for the treatment and prevention of bacterial vaginosis. *Expert Opin Pharmacother*; 11:2985-95.
- **Madsen, K.L.** (2001). The use of probiotics in gastrointestinal disease. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15:817-822.
- **Mahmoudi A.** et Mameche K. (2019). Les infections urinaires et les infections vaginales Caractérisées dans un laboratoire médical du Dr. Boudissa à Boumerdès. Mémoire de Master. Département de biologie. Faculté de SNV et ST. Université AKLI Mohand Oulhadj de Bouira. P (3-60).

- **Marie, M.**, (2018) - Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l'officine ; thèse de doctorat ; Université de Caen Normandie France ; 109p.
- **MARIE, M.**, (2018) Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l'officine THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE PRESENTEE. UNIVERSITE DE CAEN NORMANDIE. P 75.
- **Marion, P.** (2018). L'efficacité des lactobacilles dans la prévention des infections vaginales. *Journal de Microbiologie Clinique*, 12(3), 45-58.
- **Mauries, C ., et al.** (2020) Évaluation du microbiote génital : une approche émergente en assistance médicale à la procréation. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Séologie*, <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2020.07.005> Volume 49, 185-192. Consulté le 03/03/2024
- **Menard, J. P.**, & Bretelle, F. (2008). Epidemiology of Vaginal Candidosis among Women in France. *Journal of Mycology and Infectious Diseases*, 32(4), 215-220.
- **MERK, K.**, Borelli, C et Korting, H.CH. (2005). Lactobacilli bacteria hoste interactions with special regard to the urogenital trac . *International Jouranl Of Medical Microbiology*. 295 : 9-18
- **Miller , EA.**, Beasley, DE., Dunn, RR., Archie, EA. (2016). Lactobacilli Dominance and Vaginal pH : Why Is the Human Vaginal Microbiome Unique ? *Front Microbiol*.7 :1936.
- **Mirlohi, A.**, McKeown, K. A., Khan, S. J., & Naidu, R. (2008). "Impact of biosolids application on microbial diversity and activity in Australian soils." *Environmental Pollution*, 153(1), 203-210.
- **Nugent, R.P.**, Krohn, M.A., Hillier, S.L. (1991). Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*, 297-301.
- **O'Hanlon ,DE.**, Moench ,TR., Cone, RA. (2013). Vaginal pH and Microbicidal Lactic Acid When lactobacilli Dominate the Microbiota. *PLoS One.*; 8(11) :e80074.
- **O'Hanlon, DE.**, Come, RA., Moench, TR. (2019). Vaginal pH measured in vivo : lactobacilli determine pH and lactic acid concentration. *BMC Microbiol*. 19 :13.
- **Ocaña VS**, De Ruiz Holgado AA, Nader-Macías ME. (1999). Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*

isolated from the human vagina. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 199. 23(2):87-92

- **Oleskin, A.V.**, El, G.I., Shenderov, B.A. (2016). Role of neuromediators in the functioning of the human microbiota : “Business Talks” among microorganisms and the microbiota-host dialogue. *Microbiology*. 85:1–22.
- **Orla-Jensen, S.**, Olsen, E., Geill, T. (1949). Senility and Intestinal Flora A Reexamination of Metchnikoffs Hypothesis. *Journal Gerontology*. 4(1):5-15
- **Ouarabi, L.**, Ait Chait, Y., Ait Seddik, H., Drider, D., Bendali, F., (2017). Newly Isolated Lactobacilli strains from Algerian Human Vaginal Microbiota: *Lactobacillus fermentum* Strains Relevant Probiotic’s Candidates. pp 49.
- **Pangsomboon, A.**, Kaewnopparat, S., Pitakpornpreecha, T., & Srichana, T. (2006). Antibacterial activity of a bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* HL32 against porcine pathogenic bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28(5), 318-324.
- **Pascal, F .**, et MAYE-LASSERRELES, M « Infections et leurs diagnostic » . Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/> Consultée le 22/03/2024
- **Pascual, L. M.**, & Barberis, I. L. (2014). The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*. Retrieved from [Microbiome Journal](#).
- **Patel, D.K.**, Shah, K.R., Pappachan, A., Gupta, S., Singh, D.D. (2016). Cloning, expression and characterization of a mucin-binding GAPDH from *Lactobacillus acidophilus*. *Int J Biol Macromol*. 91:338–46.
- **Perez, R.H.**, Zendo, T., Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microb Cell Fact*.13:1–13.
- **Peterson , J .**, Garges, S ., Giovanni, M., McInnes, P ., Wang, L ; *et al.* (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*.19(12) :2317-23.
- **Ran, G.**, Mladenovi, V. (2012). Microbiological aspects of vulvovaginitis in prepubertal girls. *Eur. J. Pediatr*, 171: 1203-1208.
- **Ran, G.**, Mladenovi, V. (2012). Microbiological aspects of vulvovaginitis in prepubertal girls. *Eur. J. Pediatr*, 171: 1203-1208.
- **Redondo-Lopez, V.**, Cook, R. L., & Sobel, J.D. (1990). Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev. Infect. Dis*, 12:856-872.

- **Rossi, F.,** Amadoro, C., Colavita, G. (2019). Members of the Lactobacillus genus complex (LGC) as opportunistic pathogens : a review. *Microorganisms*. 7:126.
- **Rossi, M. L.,** Ghosh, A. K., & Bohr, V. A. (2010). Roles of Werner syndrome protein in protection of genome integrity. *DNA Repair (Amst)*, 9(3), 331-344.
- **Rousseau, V.** (2002). Rôle protecteur d la flore de Doderleïn. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 31, 485-494.
- **Sadik A.** (2020). Vaginoses et vaginites au dernier trimestre de grossesse. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine et de pharmacie Marrakech. Université Cadi Ayyad. P (35).
- **Saidi, N.,** Harrath, A., Charfi, S., Saïdi, R., & Benali, D. (2002). "Numerical study of natural convection in a cavity partially heated from below and cooled from above." *International Journal of Heat and Fluid Flow*, 23(3), 365-373.
- **Santulli, P.,** Vaurs-Barrière, C., & Chapron, C. (2018). The vaginal microbiota: A major player in human reproduction. *Human Reproduction*, 37(7), 1525-1538. doi:10.1093/humrep/dey065.
- **Schaefer, A.,** Nils, F., Sanchez, X., & Philippot, P. (2010). Assessing the effectiveness of a large database of emotion-eliciting films: A new tool for emotion researchers. *Cognition and Emotion*, 24(7), 1153-1172.
- **Selle, K and Klaenhammer, T.R.** (2013). Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of Lactobacillus gasseri on human health. *FEMS Microbiol Rev.*, 37:915-35
- **Sengupta, R.,** Altermann, E., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Roy, N.C (2013). The role of cell surface architecture of Lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators Inflamm*. 2013:237921.
- **Senok, A.C.,** Verstraelen, H., Temmerman, M., Botta, G.A. (2009). Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis. *Cochrane Database Syst Rev*; 4:CD006289.
- **Singleton, R. A., & Straits, B. C.** (2005). *Approaches to Social Research* (4th ed.). Oxford University Press.
- **Smith, SB.,** Ravel, J.(2017). The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol* , 595(2) :451-63.
- **Spurbeck, R.R.,** Arvidson, C.G. (2011). Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiology*, 6(5), 567-82.
- **Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H.** (1997). "Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy." *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1-29.

- **Stiles, M.E., & Holzapfel, W.H.**(1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29
- **Tachedjian, G., Aldunate,M., Bradshaw,C.S., Cone, R.A.** (2017). The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology* 168 782-792.
- **Tachedjian, G., Aldunate,M., Bradshaw,C.S., Cone, R.A.** (2017). The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in*
- **Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., & Macia, L.** (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Advances in Immunology*, 121, 91-119.
- **Taverniti V, Guglielmetti S.** The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* (2011) 6:261–74. doi: 10.1007/s12263-011-0218-x
- **Tissier H.,** (1907). Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin. *Sudoc.*
- **Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L.** (2003). *Microbiology: An Introduction* (8th ed.). Benjamin Cummings.
- **Trivedi, C.A., & Bollmann, J.H.** (2013). Visually driven chaining of elementary swim patterns into a goal-directed motor sequence: a virtual reality study of zebrafish prey capture. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 8.
- **Tsilingiri, K., & Rescigno, M.** (2013). Postbiotics: What else? Beneficial microbes, 4(1), 101-107.
- **Ünlü, C., & Donders, G. G. G.** (2011). *The role of estrogen in the regulation of the vaginal microenvironment and lactobacilli colonization.* *Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.*
- **Vaneechoutte M.** (2017) The human vaginal microbial community. *Res Microbiol.* 168(9-10):811-25
- **Williams NT.** Probiotics. *Am J Heal Pharm.* (2010). 67:449–58. doi: 10.2146/ajhp090168
- **Wongputtisin, P., & Khanongnuch, C.** (2015). Preliminary evaluation of potential prebiotic capacity of selected oligosaccharides prepared from local agricultural residues. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 355-364.

- **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.
- **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.
- **Yann, M.,** Donders, G., & Verstraelen, H. (2020). Healthy Vaginal Microbiota and Influence of Probiotics Across the Female Life Span. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1515. *Frontiers in Microbiology*.
- **Zheng, J.,** Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, CMAP., Harris, HMB., Mattarelli, P. (2020). A taxonomic note on the Genus *Lactobacillus* : Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70(4):2782-858.

# ***Annexes***

**ANNEX 1 : Le consentement**

EHS mère et enfant Lala Keira de Mostaganem  
Rue Beloudane Abdelkader, Mostaganem

Nadia BECHELAGHEM  
Ecole supérieure d'agronomie de Mostaganem, Algeria.  
Mobile: +213782314836  
Email: n.bechelaghem@esa-mosta.dz

**Consentement pour participer à la recherche : Etude *in vitro* de l'activité antimicrobienne des lactobacilles vaginaux d'origine humaine contre des germes causant des infections génitales chez la femme**

Référence d'approbation de l'EHS mère et enfant Lala Keira de Mostaganem :.....

**Objectif de cette recherche :** Examen *in vitro* des caractéristiques des lactobacilles isolés à partir de prélèvements vaginaux de femmes algériennes en bonne santé comme éventuel probiotique ou postbiotique pour la prévention et le traitement des infections génitales.

Ces femmes peuvent consulter et voir leur résultats après la fin de cette étude et tous se passe comme un dépistage.

\*Veuillez cocher chaque case si vous êtes d'accord

- J'ai eu l'occasion d'examiner les informations, de poser des questions et j'ai obtenu des réponses satisfaisantes.
- Je comprends que ma participation est volontaire et que je suis libre de me retirer à tout moment [jusqu'au .../.../.... ], sans donner de raison.
- Je comprends qui aura accès aux données personnelles fournies, comment les données seront stockées et ce qu'il adviendra des données à la fin du projet
- Je comprends que je ne serai pas identifiable à partir de toute publication ou énumérez ici d'autres résultats de recherche, par exemple, des rapports pour des organisations spécifiques, des présentations
- Je comprends comment mes informations seront utilisées dans les résultats de la recherche.

Je confirme avoir lu et compris la fiche d'information version relative à la recherche ci-dessus

---







**Annexe 3 : Composition des milieux liquides, semi-solides et solides utilisés*****Milieux liquides*****Bouillon Nutritif (BN) (g/l)**

Peptone .....	.6g
Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure .....	2g
NaCl .....	5g
Eau distillée .....	1000ml
pH=7,3±0,2	

**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
Hydrogénéocitrate di-ammonium .....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Sulfate de magnésium .....	0,2g
Sulfate de manganèse .....	0,04g
Eau distillée .....	1000 ml
pH =6,5±0,1	

**Milieux semi-solides****MH semi-solide**

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,5g
Agar .....	7g
Eau distillée.....	1000 ml
pH= 7,3	

**Sabouraud semi-solide**

Peptone.....	10g
Glucose .....	20g
Agar.....	7,5g
Eau distillée .....	1000 ml
pH=5,7± 0,2	

**Milieux solides****MRS Agar (MRSA) (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

**Sabouraud-chloramphénicol (g/l)**

Peptone .....10 g

Glucose ..... 20 g

Agar .....15 g

Eau distillée .....1000 ml

Chloramphénicol.....0,5g

pH=5,7± 0,2

**MH solide**

Extrait de viande.....3g

Hydrolysate acide de caséine..... 17,5g

Amidon.....1,5g

Agar .....15g

Eau distillée.....1000 ml

pH= 7,3