

République Algérienne Démocratique Et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N° \_\_\_\_\_/SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**STAALI MESTOURA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Analyses Biologiques et Biochimique**

THÈME

**L'effet probiotiques de *Lactobacillus rhamnosus* sur  
les infections urogénitales.**

Soutenu publiquement le 21/06/2017

DEVANT LE JURY

Président	<b>NEBACHE Salim</b>	<b>M.C.B U. Mostaganem</b>
Encadreur	<b>BENBOUZIANE Bouasria</b>	<b>M.C.B U. Mostaganem</b>
Examineurs	<b>BEKADA Ahmed</b>	<b>Professeur U. Mostaganem</b>

*Thème réalisé au Laboratoire de Microbiologie N°03 Site III. Univ-Mosta.*



## **REMERCIEMENTS**



*Nos profonds remerciements vont à notre promoteur au Docteur **B. BENBOUZIANE** Maître de conférences à l'université de Mostaganem pour la proposition de ce thème ainsi que pour sa compréhension et pour l'aide qu'il nous a prodigué.*

*On exprime notre profonde gratitude au Professeur **BEKADA Ahmed** et docteur **NEBACHE Salim** Maître de conférence classe B à l'université de Mostaganem qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.*

*On tient également à remercier vivement le Docteur **NEBACHE** de nous avoir accueillis dans son Parcours.*

*J'adresse également nos sincères remerciements à **M. Benbouziane Djillali** responsable du laboratoire de Microbiologie qui a collaboré sans hésitations dans ce travail en donnant généreusement ces conseils et ces orientations.*

*Aucun mot ne serait suffisamment pour exprimer ma gratitude envers mes chers parents pour les conseils et leur soutien tout au long de mes années d'études.*

*Je remercie également mon cher Youcef pour son soutien et sa présence.*

*Mes remerciements s'adressent enfin à tous nos collègues et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***Mestoura***



## *Dédicaces*



*Je dédie ce travail à mon très **cher père** qui n'a jamais cessé de m'apporter le soutien que j'ai besoin durant mon parcours éducatif ainsi de sa tendresse et sa compréhension*

*A la lumière de ma vie, ma chère **mère** qui a toujours peiné pour me créer les conditions nécessaires pour bien réussir dans mes études.*

*A ma chère sœur **Hadjira** et mes chers frères*

*A mes amours **Ayoub, Youcef, Yassine et Sabrine***

*A mon amie d'enfance **Salima***

*A mes agréables amies **Imene, Tita, Samia, Kawtar et Abir***

*A la personne qui était toujours à mes côtés **Youcef***

*Et à toute ma famille.*

*Mestoura*

## Résumé

Notre étude concerne l'effet thérapeutique des probiotiques de *Lactobacillus rhamnosus* lors des infections urogénitales.

L'étude expérimentale faite au niveau de laboratoire de microbiologie basée sur le principe de la méthode des puits ADT, nous a montré que le genre *Lactobacillus rhamnosus* inhibent la croissance de la souche pathogène *Candida albicans* en présentant une zone d'inhibition compris entre 13 et 20 mm de diamètre.

Les résultats présentés dans ce travail permettent de fournir un ordre d'idée plus clair sur le potentiel antimicrobien de la souche *Lactobacillus rhamnosus* vis-à-vis l'agent responsable des infections urogénitales *Candida albicans*.

**Mots clés :** probiotique, *Candida albicans*, *Lactobacillus rhamnosus*, infections urogénitales.

## **Abstract**

Our study concerns the therapeutic effect of probiotics of *Lactobacillus rhamnosus* in urogenital infections.

The experimental study made at the microbiology laboratory based on the principle of the method of the wells ADT, showed us that the genus *Lactobacillus rhamnosus* inhibit the growth of the pathogenic strain *Candida albicans* by presenting an area of inhibition between 13 and 20 mm diameter.

The results presented in this work provide a clearer idea of the antimicrobial potential of the *Lactobacillus rhamnosus* strain against the agent responsible for urogenital infections *Candida albicans*.

**Keywords:** probiotics, *Candida albicans*, *Lactobacillus rhamnosus*, urogenital infections.

# ***SOMMAIRE***

Remerciements.

Dédicace.

Résumé.

Sommaire

Liste des tableaux et des figures.

Liste des abréviations.

Introduction..... 1

## **Revue bibliographique**

### **CHAPITRE I : LA FLORE UROGENITALE PHYSIOLOGIQUE.**

I. La flore urogénitale physiologique..... 4

I.1 Biodiversité de la flore urogénitale..... 4

I.1.1 Le PH vaginal..... 4

I.1.2 La composition de la flore microbienne normale..... 4

I.1.3 Evolution de la flore vaginale..... 6

a. Des premières semaines de la vie à la petite enfance..... 6

b. Au moment de la puberté..... 7

c. Au cours du cycle menstruel..... 7

II. Rôle protecteur de la flore lactobacillaire..... 8

II.1 Les mécanismes de l'inhibition de la croissance des pathogènes..... 8

1. Le pH du milieu vaginal..... 9

2. Sécrétion de peroxyde de l'hydrogène..... 9

3. Sécrétion des bactériocines..... 9

4. Sécrétion de l'arginine désaminase..... 9

5. Inhibition de l'adhésion des germes pathogènes..... 9

6. Capacité de co-agrégation aux germes pathogènes..... 10

7. La 1<sup>ère</sup> ligne de défense immunitaire..... 10

### **CHAPITRE II : LES PATHOLOGIES DE L'APPAREIL UROGENITAL.**

I Les infections de l'appareil urinaire..... 12

I.1 définition et épidémiologie..... 12

I.2 prévalence des infections urinaires..... 13

<b>I.2.1</b> Liée à l'âge et au sexe.....	13
<b>I.2.2</b> Liée à des situations à risque.....	13
<b>I.3</b> physiopathologie des infections urinaires.....	13
<b>I.3.1</b> Origine de l'infection.....	13
<b>a.</b> endogène.....	13
<b>b.</b> exogène.....	13
<b>c.</b> maladies sous-jacentes et état immunitaire.....	13
<b>I.4</b> Les types d'infection urinaire.....	14
<b>I.4.1</b> les IU basses.....	14
<b>I.4.2</b> les IU hautes.....	14
<b>I.5</b> L'agent pathogène.....	15
<b>I.6</b> Les facteurs favorisants.....	16
<b>I.6.1</b> Facteurs physiques.....	16
<b>I.6.2</b> Facteurs environnementaux.....	16
<b>I.6.3</b> Facteurs physiologiques et pathologiques.....	17
<b>I.7</b> les outils du diagnostic.....	18
<b>I.7.1</b> ECBU.....	18
<b>I.7.2</b> Test de bandelettes urinaires.....	20
<b>I.8</b> Traitement des infections urinaires.....	21
<b>I.8.1</b> Traitement des infections urinaires bactériennes.....	21
<b>I.8.2</b> Traitement des infections urinaires fongiques.....	21
<b>II</b> Les infections de l'appareil génital .....	22
<b>II.1</b> La vaginose bactérienne.....	22
<b>II.1.1</b> Définition.....	22
<b>II.1.2</b> Epidémiologie.....	22
<b>II.1.3</b> Physiopathologie.....	22
<b>II.1.4</b> Agents pathogènes.....	23
<b>II.1.5</b> facteurs favorisant le déséquilibre de la flore vaginale.....	24
<b>II.1.6</b> Signes cliniques.....	26
<b>II.1.7</b> Diagnostic.....	26
<b>II.1.8</b> Traitement.....	27
<b>II.2</b> La vaginite à <i>candida albicans</i> .....	27
<b>II.2.1</b> Définition.....	27

<b>II.2.2</b> Epidémiologie.....	28
<b>II.2.3</b> Physiopathologie.....	28
<b>II.2.4</b> Agent pathogène.....	28
<b>II.2.5</b> Manifestations cliniques.....	29
<b>II.2.6</b> Facteurs favorisants.....	29
<b>II.2.7</b> Diagnostic.....	31
<b>II.2.8</b> Traitement.....	34
<b>a.</b> l'épisode aigu.....	34
<b>b.</b> De candidose vulvo-vaginale récidivante.....	34

### **CHAPITRE III : LES PROBIOTIQUES DANS LA THERAPEUTIQUE UROGENITALE.**

<b>I.</b> Définition et rôle des différents traitements utilisés pour rééquilibrer la flore vaginale.....	36
<b>II.</b> Les probiotiques.....	37
<b>II.1</b> Définition.....	37
<b>II.2</b> Les critères de sélection.....	37
<b>II.3</b> Les souches à action probiotique.....	39
<b>II.4</b> Effets bénéfiques des probiotiques.....	40
<b>II.5</b> Mécanisme d'action contre les pathogènes.....	40
<b>II.5.1</b> Mécanismes anti-bactériens.....	40
<b>III.</b> Les prébiotiques.....	42
<b>VI.</b> Les symbiotiques.....	43
<b>V.</b> Etude d'efficacité des probiotiques vis-à-vis les pathologies urogénitales.....	43
<b>V.1</b> Probiotiques et infections urinaires.....	43
<b>V.2</b> Probiotiques et vaginose bactérienne.....	43
<b>V.3</b> Probiotiques et candidose.....	44
<b>IV.</b> Mesures d'accompagnement et de protection de la flore urogénitale.....	44
<b>IV.1</b> L'hygiène.....	45
<b>IV.2</b> Autres conseils.....	45

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES.**

<b>I. Matériels.....</b>	<b>48</b>
<b>I.1 L'objectif.....</b>	<b>48</b>
<b>I.2 Présentation du lieu de l'étude expérimental.....</b>	<b>48</b>
<b>I.3 Matériel expérimental.....</b>	<b>48</b>
<b>I.3.1 Les souches bactériennes.....</b>	<b>48</b>
<b>I.3.1.1 Les souches lactiques.....</b>	<b>48</b>
<b>I.3.1.2 Les souches pathogènes.....</b>	<b>48</b>
<b>I.4 Les milieux de culture.....</b>	<b>48</b>
<b>I.5 Appareillage.....</b>	<b>48</b>
<b>I.6 Solutions.....</b>	<b>49</b>
<b>I.7 Verrerie et petit matériel.....</b>	<b>49</b>
<b>II. Méthodologie utilisée.....</b>	<b>50</b>
<b>II.1 La technique de réactivation des souches.....</b>	<b>50</b>
<b>II.2 Examen macroscopique de la souche pathogène.....</b>	<b>50</b>
<b>II.3 Examen microscopique .....</b>	<b>50</b>
<b>II.3.1 Technique de préparation des frottis.....</b>	<b>51</b>
<b>II.4 Conservation des souches.....</b>	<b>51</b>
<b>I.5 Pouvoir antibactérien des souches.....</b>	<b>52</b>
<b>I.5.1 Préparation de l'inoculum.....</b>	<b>52</b>
<b>III.5.2 Méthode des puits ADT (Agar well Diffusion Test).....</b>	<b>52</b>

### **CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. Résultats.....</b>	<b>57</b>
<b>I.1 Examen macroscopique.....</b>	<b>57</b>
<b>I.1.1 Les souches lactiques.....</b>	<b>57</b>
<b>I.1.2 La souche pathogène.....</b>	<b>57</b>
<b>I.1.3 La souche ultra levure.....</b>	<b>58</b>
<b>I.2 Examen microscopique.....</b>	<b>59</b>
<b>I.3 Recherche d'antagoniste.....</b>	<b>60</b>
<b>I.3.1 Méthode des puits ADT (Agar Well Diffusion Test).....</b>	<b>60</b>

<b>I.3.2</b> Méthode des puits ADT (Agar Well Diffusion Test) Surnageant non neutralisé .....	62
--	----

**Conclusion**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

## Liste de figures

<b>Figure 01</b> : La flore vaginale normale.....	05
<b>Figure 02</b> : Effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène.....	08
<b>Figure 03</b> : Frottis vaginal avec présence de cellules indicatrices (grand nombre de <i>G. vaginalis</i> fixées sur des cellules épithéliales).....	23
<b>Figure 04</b> : Mycose vaginale à <i>candida albicans</i> .....	30
<b>Figure 05</b> : Examen direct d'un prélèvement vaginal (levures et blastopores).....	32
<b>Figure 06</b> : Examen direct d'un prélèvement vaginal (levures et filament)....	32
<b>Figure 07</b> : Culture de <i>candida albicans</i> .....	33
<b>Figure 08</b> : Les différents niveaux d'action pour rééquilibrer la flore urogénitale. ....	37
<b>Figure 09</b> : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques.....	40
<b>Figure 10</b> : Les mécanismes d'action des probiotiques.....	42
<b>Figure 11</b> : protocole de la méthode des puits.....	55
<b>Figure 12</b> : croissance de <i>Lb rhamnosus</i> sur MRS bouillon.....	57
<b>Figure 13</b> : culture de <i>candisa albicans</i> sur le bouillon de Sabouraud.....	58
<b>Figure 14</b> : culture de la souche <i>ultra levure</i> sur milieu Sabouraud bouillon.....	58
<b>Figure 15</b> : Aspect microscopique de <i>candida albicans</i> .....	59
<b>Figure 16</b> : Aspect microscopique de <i>candida albicans</i> colorées par la fuschine.....	59
<b>Figure 17</b> : Effet antagoniste de <i>Lb rhamnosus</i> vis-à-vis <i>candida albicans</i> selon la méthode des puits.....	60
<b>Figure 18</b> : Effet antagoniste de <i>Lb rhamnosus</i> , <i>Lb rhamnosus</i> + la thiosulfate et du peroxyde de l'hydrogène, vis-à-vis <i>candida albicans</i> selon la méthode des puits.....	61
<b>Figure 19</b> : Effet antagoniste de <i>Lb rhamnosus</i> + le peroxyde de l'hydrogène, vis-à-vis <i>candida albicans</i> selon la méthode des puits.....	62
<b>Figure 20</b> : Effet de surnageant non neutralisé de <i>Lb rhamnosus</i> sur <i>Candida albicans</i> selon la méthode des puits.....	63

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Classification des principaux agents pathogènes.....	15
<b>Tableau 02</b> : Interprétation des résultats de l'ECBU.....	19
<b>Tableau 03</b> : Critères de sélection des probiotiques.....	38

## ***Liste d'abréviation***

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AFSSAAPS** : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

**ANOFEL** : Association française des enseignants et praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicale.

**DIU** : Dispositif intra-utérin.

**°C** : Degré Celsius

**E.coli** : Escherichia coli.

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines.

**FAO**: Food and agriculture organization.

**HIV**: Virus de l'immunodéficience humaine.

**IgE** : Immunoglobuline E.

**IU** : Infection urinaire.

**LB** : Lactobacillus.

**µl** : micro litre

**ml** : millilitre.

**MRS**: Man, Rogosa, Sharpe.

**OMS**: organisation mondiale de santé.

**PH** : potentiel hydrogène.

**Spp** : species pluralis : espèces.

**UFC/ml** : unité formant colonie.

## **Introduction**

Dans notre société très médiatisée, nous entendons de plus en plus fréquemment parler de probiotiques que ce soit dans l'industrie alimentaire (yaourts, laits maternisés) ou dans d'autres domaines comme la cosmétique ou le médical. Mais si le terme est connu, la véritable nature de ces « gentilles bactéries » et leur réelle influence sur notre santé restent bien souvent plus obscures.

Pourtant, nous savons depuis le développement du séquençage génétique que notre organisme coexiste avec une population microbienne très importante (Martin DH, 2012). En effet le nombre de cellules bactériennes est dix fois supérieur au nombre de cellules humaines. Cette supériorité numérique est encore plus flagrante avec le nombre de gènes : le taux s'élève alors à mille contre un.

En dehors des multiples infections, la perturbation de la flore urogénitale physiologique peut avoir des conséquences sur le domaine de la reproduction comme la fertilité mais également le déroulement de la grossesse et les pathologies périnatales du nouveau-né. L'utilisation des probiotiques en préventif comme en curatif pourrait alors se révéler être une piste valable dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Notre travail consiste à étudier, l'utilisation des probiotiques dans la thérapeutique urogénitale pour tester l'effet de cette substance biologique dans la réduction de la flore urogénitale

## I. La flore urogénitale physiologique

### I.1 Biodiversité de la flore urogénitale

#### I.1.1 Le pH vaginal

La muqueuse vaginale est lubrifiée par les glandes vestibulaires ou glandes de Bartholin situées de chaque côté de la moitié postérieure de l'orifice vaginal. Sous l'influence des œstrogènes, les cellules épithéliales libèrent de grandes quantités de glycogène, qui est ensuite transformé en acide lactique par les bactéries résidentes du vagin au cours d'un métabolisme anaérobie (Marieb, 2005). Ce mécanisme est largement responsable de l'acidité présente au sein du vagin. En effet, le pH de la cavité vaginale est normalement acide. Il est environ 4 (3,8-4,4) (Bergogne-Bérézin, 2007). Cette acidité empêche ainsi les agents pathogènes de se développer dans la cavité et protège donc le vagin contre les infections (Turovskiy et al, 2011).

Un pH anormal évoque donc une possible infection vaginale. Dans les pathologies telles que la vaginose bactérienne et les vaginites à *Trichomonas vaginalis*, le pH est généralement supérieur ou égal à 4,5. Inversement, lors de vaginites à *candida albicans*, le pH devient très acide et inférieur à 4. Des situations non infectieuses peuvent également modifier le pH vaginal. En effet, au cours des règles, lors de rapports sexuels non protégés avec entrée du sperme dans la cavité vaginale ou lors de l'utilisation d'antifongiques ou d'antibiotiques locaux, on observe une augmentation du pH vaginal (Bergogne-Bérézin, 2007).

#### I.1.2 Composition de la flore microbienne normale

La flore bactérienne dominante est représentée par le genre *Lactobacillus*. Il existe de nombreuses espèces de lactobacilles ; plus de vingt espèces ont été identifiées dans la cavité vaginale. Les espèces les plus souvent rencontrées sont *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* et *L. iners*. La concentration usuelle des lactobacilles en l'absence de pathologies est de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries par gramme de sécrétions vaginales (Denis et al, 2007).

Cette prédominance d'espèces de lactobacilles au sein de la flore vaginale normale garantit un milieu vaginal "en bonne santé", grâce à la production d'acide

lactique qui permet de maintenir un environnement acide, et donc un environnement hostile au développement des pathogènes (Lamont et al, 2011).

A côté de cette flore vaginale dominante, il existe une grande diversité d'espèces. En fait, on peut classer les espèces de la flore vaginale en trois groupes distincts en fonction de leur origine écologique :

- **Groupe I:** représenté par la flore bactérienne dominante spécifiquement adaptée à la cavité vaginale. Cette flore est aussi appelée **flore de Döderlein**, Albert Döderlein (1892) avait été le premier à décrire les organismes colonisant le vagin. Il expliquait que ces organismes produisaient de l'acide lactique qui inhibe la croissance des bactéries pathogènes. Les lactobacilles sont observables à la coloration de Gram, ce sont de gros bacilles à Gram positif (Lamont et al, 2011), Fig 01:



**Figure 01 :** flore vaginale normale (coloration de Gram) : les lactobacilles se présentent sous forme de longs bacilles à Gram positif recouvrant un tapis de cellules épithéliales (<http://pedagogie.ac-montpellier.fr/disciplines/sti/biotechn>)

- **Groupe II :** représenté par la flore bactérienne **d'origine digestive** qui colonise souvent les voies génitales. On la retrouve chez 2 à 80% des femmes selon les bactéries impliquées : *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* des entérobactéries en particulier *E.coli*, *Proteus*, *Morganella*, *Klebsiella*,... etc. ces bactéries sont plus présentes chez les femmes sous antibiothérapie. On y retrouve aussi des bactéries dont la présence est fréquemment associée à la vaginose bactérienne telle que *Gardnerella vaginalis* et des levures telles que *Candida albicans*. (Denis et al, 2007)
- **Groupe III :** représenté par les hôtes usuels de la **cavité oropharyngée** qui colonisent plus rarement la cavité vaginale. (Denis et al, 2007)

### I.1.3 Evolution de la flore vaginale :

#### a. Des premières semaines de vie à la petite enfance :

Lors de son développement *in utéro*, le fœtus évolue dans un environnement stérile. La première exposition d'un nourrisson aux micro-organismes a lieu au moment de l'accouchement lors du passage de la filière génitale puis, lors du contact avec les soignants et avec l'air de l'environnement (Turovskiy et al, 2011).

La composition de la flore vaginale est largement influencée par le taux d'œstrogènes circulants. Au cours de la grossesse, des œstrogènes sont transférés du sang maternel au sang fœtal et cela entraîne une accumulation de glycogène dans les cellules tapissant la muqueuse vaginale. Par conséquent, quelques semaines après la naissance, le vagin du nourrisson est colonisé par les lactobacilles. Ils transforment le glycogène en acide lactique et le pH vaginal est alors acide. Le vagin d'un nouveau-né a donc une composition bactérienne similaire à celui d'un vagin d'une femme adulte. A côté de cela, les œstrogènes entraînent également un épaississement de la muqueuse vaginale. Les lactobacilles vont donc dominer l'écosystème vaginal du nouveau-né jusqu'à ce que les œstrogènes maternels soient métabolisés (Tortora et al, 2003).

Ensuite, la disparition des œstrogènes maternels est suivie de divers changements au sein de l'écosystème vaginal. Chez la petite fille, il est donc constitué par d'autres bactéries, notamment celles des flores commensales de la peau et du tube digestif telles que *Staphylococcus Epidermidis*, *E. coli* ... etc. le pH vaginal est également modifié et devient plus neutre voire alcalin. Il restera ainsi jusqu'à la puberté (Turovskiy et al, 2011).

#### **b. Au moment de la puberté :**

La puberté est marquée par une hausse graduelle du taux d'œstrogènes menant à l'épaississement de la muqueuse vaginale et à l'augmentation de la production de glycogène. Les lactobacilles redeviennent alors prédominants et le pH vaginal redevient acide. Les lactobacilles endossent alors leur rôle de barrière et limitent la croissance des micro-organismes potentiellement pathogènes (Turovskiy et al, 2011 ; Tortora et al, 2003).

De la puberté à la ménopause, l'écosystème vaginal sain est donc dominé par les lactobacilles. A ce stade de maturité sexuelle, la composition de la flore microbienne, l'épaisseur relative de la muqueuse vaginale et la teneur en glycogène sont largement influencées par les estrogènes (Turovskiy et al, 2011 ; Tortora et al, 2003).

#### **c. Au cours du cycle menstruel :**

Lors des différentes phases du cycle menstruel, la composition de la flore vaginale évolue également. En effet, le nombre de lactobacilles a tendance à augmenter au cours du cycle. Simultanément, les autres micro-organismes présents dans la cavité vaginale ont tendance à diminuer. Au moment de la survenue des règles, la présence de potentiels agents pathogènes est plus élevée, faisant de cette période vulnérable, un moment propice à la survenue d'infections vaginales. Il est probable que le déséquilibre qui se produit au sein de l'écosystème vaginal est largement favorisé par l'augmentation du pH vaginal qui a lieu lors de la menstruation (Turovskiy et al, 2011).

## II. Rôle de la flore lactobacillaire :

Les lactobacilles occupent un rôle primordial dans la protection de l'écosystème vaginal. Ils constituent une première ligne de défense contre divers pathogènes vaginaux. Ils assurent ce rôle grâce à plusieurs mécanismes de défense (figure 2). Cependant, ces mécanismes sont souches-dépendants donc toutes les souches d'une même espèce de lactobacille n'ont pas le même potentiel de protection (Spurbeck et Arvidson, 2011), Fig 02 :

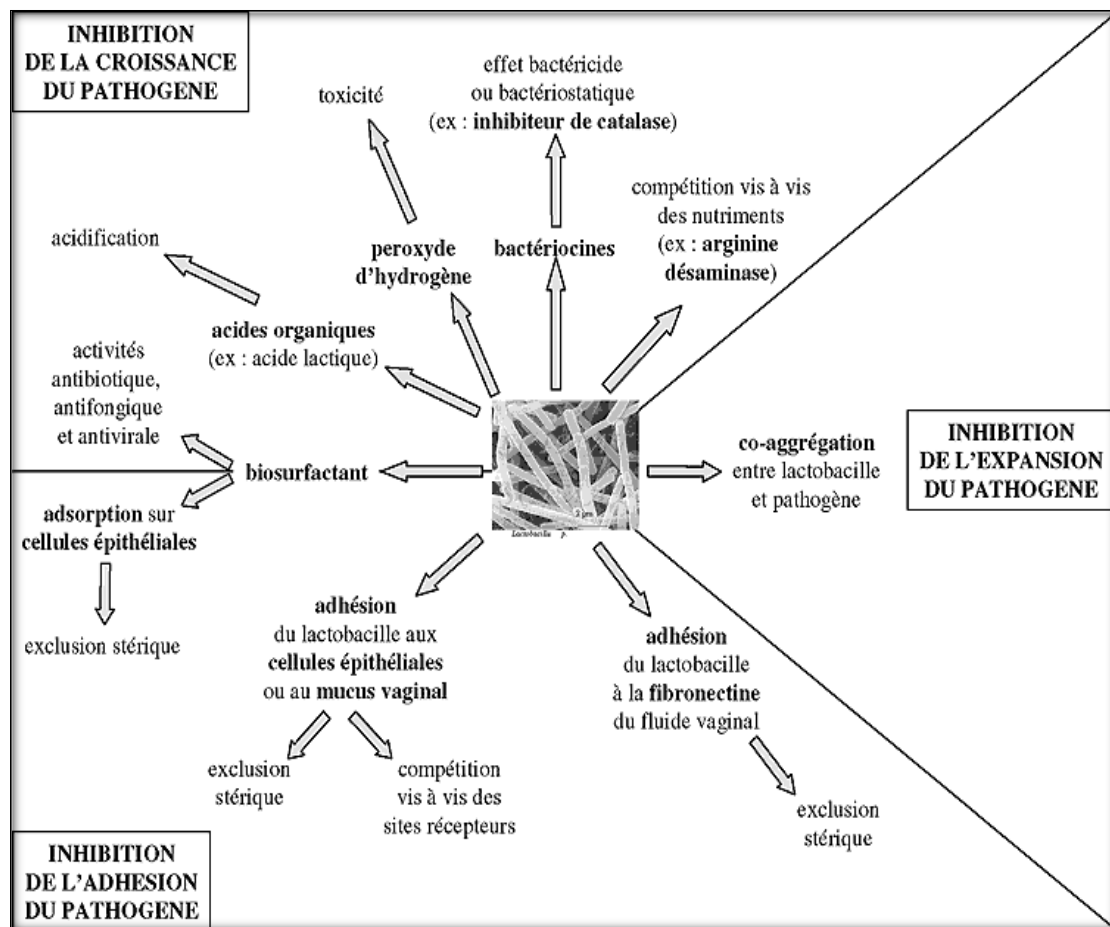


Figure 2 : effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène (Lepargneur et Rousseau, 2002).

### II.1 Les mécanismes de l'inhibition de la croissance du pathogène :

#### 1. Le pH du milieu vaginal :

En métabolisant le glycogène emmagasiné dans les cellules de l'exocol utérin (sous l'influence des oestrogènes), les lactobacilles produisent de l'acide lactique. Cet

acide produit permet le maintien du pH du milieu vaginal entre 4 et 4,5 ; cette acidité joue un rôle bactériostatique empêchant la prolifération de la plupart des germes vaginaux pathogènes excepté le *Candida Albicans*. (O'Hanlon DE et al., 2011)

## **2. La sécrétion de peroxyde de l'hydrogène :**

Par son effet oxydatif, le peroxyde de l'hydrogène joue le rôle de puissant inhibiteur de la prolifération des germes pathogènes anaérobies stricts en inhibant l'implantation de ces germes, en particulier les *Gardnerella vaginalis*. (Lecomte F, 1999).

## **3. La sécrétion des bactérocinés :**

Ce sont des dérivés protéiques produits par les lactobacilles ; ils sont capables de se fixer et de déstabiliser la membrane cytoplasmique des germes en formant des pores. (Lecomte F, 1999)

## **4. L'arginine désaminase :**

Les lactobacilles produisent cette enzyme, qui en métabolisant l'arginine, prive les germes pathogènes de cet acide aminé nécessaire à leur croissance et leur prolifération. (O'Hanlon DE et al., 2011).

## **5. Inhibition de l'adhésion des germes pathogènes :**

En adhérant à la surface de la muqueuse vaginale, le biofilm constitué par la flore vaginale joue le rôle de barrière limitant l'adhésion des germes pathogènes. La capacité des lactobacilles à s'adhérer de façon spécifique à la fibronectine renforce l'efficacité du biofilm protecteur. Cette capacité est plus forte dans les milieux à pH acide, comme c'est le cas dans le milieu vaginal normal. Les lactobacilles produisent aussi des biosurfactants, en particulier la surfactine, un inhibiteur d'adhésion de certains germes pathogènes comme *E.Coli*, et *Candida Albicans*. (O'Hanlon DE et al., 2011).

6. **La capacité de co-agréger aux germes pathogènes** ce qui empêche ces derniers d'accéder et s'adhérer aux tissus cibles et les infecter (Lecomte F, 1999).
7. **La flore vaginale joue aussi le rôle de la première ligne de défense immunitaire vaginale** en stimulant les défenses pré-immunitaires grâce aux antigènes de surface des micro-organismes composant cette flore. (Lecomte F, 1999)

Dans la partie précédente nous avons vu que la santé de l'appareil urogénital est directement dépendante de la dominance de sa flore en lactobacilles. Il s'agit cependant d'un environnement dynamique et influençable par les variations hormonales (cycle, grossesse, contraception...) et environnementales (activité sexuelle, hygiène...). Ces phénomènes sont susceptibles de perturber l'équilibre du microbiote, de permettre la prolifération de microorganismes non endogènes par altération du biofilm, et d'entraîner l'apparition de symptômes pathologiques source chez les patientes d'inconfort, de stress et de possibles conséquences sérieuses au niveau infectiologique et métabolique.

## **I. Les infections de l'appareil urinaire**

Les infections urinaires sont un problème économique autant que de santé publique : il s'agit du second motif de consultation et de prescription en France, après les infections respiratoires. Les femmes sont 5 fois plus touchées que les hommes, 40 à 50% d'entre elles feront au moins une infection urinaire au cours de leur vie dont 10% récidivante. Une femme sur trois connaîtra sa première cystite avant l'âge de 24 ans. (Vorkafer, 2011).

### **I.1 définition et épidémiologie**

On parle d'infection urinaire en présence d'un germe pathogène dans l'urine suite à une symptomatologie compatible. Les infections urinaires (IU) peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite,...) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélie). Ce sont les infections bactériennes les plus communes chez la femme, elles correspondent à une inflammation associée à une infection de la vessie causée par la prolifération anormale d'agents infectieux dans le système urinaire (Andreas U et Gerber, 2003).

50 % des femmes ont au moins un épisode symptomatique au cours de leur vie. Un tiers de femmes ayant eu un premier épisode d'IU souffrira d'infections urinaires récidivantes.

L'IU correspond à la présence de germes anormaux dans l'urine. Elle regroupe à la fois la colonisation bactérienne asymptomatique et l'infection du tractus urinaire symptomatique (Vorkafer, 2011).

## I.2 la prévalence des infections urinaires

### 1.2.1 liée à l'âge et au sexe :

Chez la femme, la fréquence augmente avec l'âge, avec 2 pics : l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre en période post-ménauposique. (Foxman et al., 2000 ; Foxman, 2002 ; Czaja et Hooton, 2006).

### 1.2.2 liée à des situations à risque

- Activité sexuelle
- Utilisation des spermicides
- Troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retendues, incomplètes)
- Diabète déséquilibré et/ou compliqué (neuropathie vésicale)
- Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire (A.F.S.S.A.P.S, 2008).

## I.3 la physiopathologie des infections urinaires

### 1.3.1 Origine de l'infection

#### a. Infection endogène :

Elle est provoquée par la propre flore du malade à partir des germes cutanés (staphylocoques par exemple) ou muqueuse du périnée, de la peau de l'abdomen ou digestifs d'origine intestinale (entérobactéries, streptocoques) (Lentilhac, 2002 ; Botto, 2003).

#### b. Infection exogène :

Elle est provoquée par un germe provenant d'un autre patient de manière directe ou indirecte par l'intermédiaire de matériel ou de l'environnement, des surfaces ou des mains des soignants (Lentilhac, 2002).

#### c. Maladies sous-jacentes et état immunitaire

- Les diabétiques avec un risque relatif à 2,2 – 2,3 et cela à cause de la glycosurie qui altère l'activité des polynucléaires, la phagocytose, et le vidange vésicale, ce qui entraîne un déséquilibre favorisant l'infection.
- Les maladies souffrant de malnutrition avec risque relatif de 2,4 (Cox, 1998).
- Néphropathie de base (lithiase, reflux, rein poly kystique, vessie neurogène ou autres obstacles à l'écoulement)
- Durée des symptômes supérieure à une semaine (surtout sous traitement antibiotique) (Andreas et Gerber, 2003).

- L'utilisation récente d'antibiotique (facteur de risque d'IU compliquée par ailleurs) (Bent et al., 2002 ; Little, 2010).

## 1.4 Les différents types d'infection urinaire

### 1.4.1 Les infections urinaires basses :

#### La cystite aigue

C'est une pathologie extrêmement fréquente (environ une femme sur deux) et également due la plus part du temps à *E. coli*. Elle comprend la colonisation symptomatique de l'urine, de l'urètre et de la vessie. Les infections sexuellement transmissibles (*Neisseria* et *chlamydia*) et les pathogènes génitaux (*Candida*, *Trichomonas* et *Gardnerella*) peuvent aussi participer à l'apparition de signes pathologiques mais sont beaucoup plus rares.

Ces infections sont qualifiées de compliquées lorsqu'elles surviennent pendant la grossesse, chez des patients présentant des anomalies structurelles ou fonctionnelles, (obstructions, lithiase, cathéter...), chez les patients diabétiques ou immunodéprimés. (Klemmer et al., 2011).

Enfin les cystites sont considérées comme récidivantes lorsqu'il y a plus de quatre épisodes par an, dont deux dans les six mois précédents. Elles peuvent être dues soit à une rechute (20% des cas) c'est-à-dire une stérilisation incomplète suivie d'une recolonisation par le même pathogène à l'arrêt du traitement, soit d'une réinfection (80% des cas) par un nouveau germe.

### 1.4.2 Les infections urinaires hautes

#### La pyélonéphrite

Elle se manifeste par de la fièvre, des douleurs lombaires, de la sensibilité à l'angle costo-vertébral, de la leucocytose, de la pyurie avec des cylindres leucocytaires dans le sédiment urinaire, des résultats positifs à la culture urinaire et une bactériémie. Le microorganisme le plus couramment en cause est comme précédemment *E.coli*, la plupart des cas sans complications survenant chez les femmes jeunes et répondant habituellement favorablement au traitement. (Drai et al., 2012).

## I.5. Les principaux agents pathogènes

Les uropathogènes sont classés en quatre groupes en fonction de leur pathogénicité comme figuré dans le tableau.

**Tableau 1** : Classification des principaux agents pathogènes. (Belin N et Bontemps F, 2012).

GROUPE I	Bactéries considérées comme pathogènes même faible bactériurie ( $\geq 10^3$ UFC/ml) <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
GROUPE II	Bactéries souvent impliquées : <i>Entérobactéries autres que E.coli</i> ( <i>Klebsiella spp</i> , <i>Proteus spp</i> , <i>Enterobacter...</i> ) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus spp</i> <i>Corynebacterium urealiticum</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
GROUPE III	Bactéries dont l'implication est peu fréquente avec bactériurie élevée ( $\geq 10^5$ UFC/ml) et isolation dans au moins deux échantillons d'urine <i>Staphylocoques à coagulase négative autres que saprophyticus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Aerococcus urinae</i> <i>Pseudomonaceae autres que aeruginosa</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

GROUPE IV	Espèces appartenant aux flores urogénitales considérées en général comme contaminants <i>Streptocoques <math>\alpha</math> hémolytique,</i> <i>Gardnerella vaginalis, Lactobacillus spp., bacilles corynéformes sauf C.urealyticum.</i>
-----------	---

Les germes du groupe I sont le plus souvent retrouvés en cas d'infection et sont généralement synonyme d'une contamination fécale. (Belin N et Bontemps F, 2012).

## 1.6. Les facteurs favorisant les infections

La prédominance des cystites chez la femme est en lien avec certains facteurs qui agissent comme perturbateurs des éléments protecteurs des flores adjacentes et/ou favorisant la prolifération des pathogènes. (Lecomte F, 1999 ; Klemmer PJ et Mattern WD, 2011).

### 1.6.1. Les facteurs physiques :

- L'anatomie féminine est caractérisée par un urètre court (3-4 cm) et topographiquement proche de l'anus et du vagin qui sont deux réservoirs bactériologiques donc des sources de contamination potentielles selon leur teneur en lactobacilles protecteurs.
- Comme pour le milieu vaginal, le cycle hormonal entraîne des modifications périodiques de l'acidité de l'urine donc une variation de l'action inhibitrice vis-à-vis des pathogènes.
- Enfin, il existe une composante héréditaire dans la mesure où les antécédents maternels constituent un facteur de risque au même titre que la survenue d'épisodes au cours de l'enfance. (Lecomte F, 1999 ; Belin N et Bontemps F, 2012 ; Lobel B et Soussy C, 2007).

### 1.6.2. Les facteurs environnementaux et comportementaux

- Les rapports sexuels sont considérés comme favorisant l'apparition de pathologies urogénitales. En effet, le sperme, les spermicides et certains lubrifiants sont alcalinisants pour le milieu entraînant une potentielle

perturbation de la flore vaginale elle-même responsable de la contamination urinaire.

- L'existence concomitante de pathologies génitales (mycoses, vaginites, vaginoses) est un autre facteur de contamination des voies urinaires.
- D'autres paramètres comme l'insuffisance ou l'excès (décapage et irritation cutanée) d'hygiène, l'essuyage post mictionnel de l'arrière vers l'avant (ramenant les germes fécaux dans la zone vulvaire) et le port de vêtements serrés ou synthétiques (macération) participent eux aussi à faciliter la contamination. (Lobel B et Soussy C, 2007).

### **1.6.3. Les facteurs physiologiques et pathologiques :**

- Au cours de la grossesse, la progestérone inhibe la production de péristaltisme ce qui induit une diminution du tonus des sphincters uréthro-vésicaux. De plus, avec l'étirement des uretères facilitant le reflux vésical, l'alcalinisation des urines par rejet de bicarbonate et une éventuelle glycosurie, c'est un état qui favorise non seulement la prolifération des pathogènes mais aussi leur remontée vers les reins.
- Un autre état considéré à risque est le diabète. En effet, la forte teneur de ses urines en glucose peut induire le déclenchement d'une cystite (avec ou sans symptômes)
- D'autres pathologies comme les insuffisances rénales ou les neuropathies touchant à l'innervation de la vessie et ses sphincters maintiennent un volume résiduel potentiellement contaminant et constituent donc un facteur de risque.
- Les déplétions de la flore des microbiotes environnants par les traitements antibiotiques, l'inefficacité des moyens immunologiques innés et acquis dans le cas d'immunodépression ou encore le port à demeure d'appareillage comme les sondes constituent autant de voies de colonisations de l'appareil urinaire pouvant conduire à une pyélonéphrite.

## **I.7. Les outils du diagnostic :**

Le diagnostic de la cystite aigue peut se faire sur présentation clinique, car la symptomatologie est typique. Celle-ci se reconnaît facilement sur la base de 3 signes :

- Brulures et douleurs à la miction,
- Pollakiurie,
- Mictions impérieuses.

Outres ces 3 signes, il faut s'assurer qu'il n'existe aucun facteur de complication, notamment la fièvre ou les douleurs lombaires (évocateurs d'une pyélonéphrite).

### **I.7.1. L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU)**

Il comprend plusieurs étapes :

- L'examen direct pour rechercher les leucocytes et les bactéries dans les urines ;
- La culture quantitative de l'urine considérée comme l'examen de référence qui permet un diagnostic de certitude ;
- L'antibiogramme qui est l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de la bactérie responsable, et qui permet d'adapter le traitement.

Il s'agit d'un examen simple à réaliser, mais dont la qualité repose sur le respect d'une méthodologie rigoureuse. L'objectif est de recueillir l'urine vésicale normalement stérile, en évitant sa contamination lors de la miction par la flore commensale qui colonise l'urètre et la région périnéale. (DUPEYRON, 2006 ; DARBAS et al., 2007).

#### **a. Prélèvement ou recueil de l'urine : (DARBAS et al., 2007)**

Il s'agit d'une étape primordiale qui conditionne la qualité des résultats. L'ECBU peut se dérouler au laboratoire ou à domicile, l'essentiel étant de bien respecter les conditions optimales pour un bon recueil des urines :

- Les conditions d'asepsie rigoureuses après une toilette soignée de la région périnéale à l'eau et savon ou antiseptique type Dakin, suivie d'un rinçage au

sérum physiologique ou à l'eau pour éviter que les traces de savon ou d'antiseptique ne soient entraînées par le jet d'urine.

- L'élimination du premier jet d'urine (10 à 20 ml) pour laver l'urètre distal de sa flore commensale. L'urine est donc recueillie en milieu de jet dans un pot stérile ouvert juste avant de recueil et renfermé juste après. Un recueil de 5 à 20 ml d'urine est suffisant.
- Le recueil d'urine se fait au mieux le matin, si possible au moins 4 heures après une miction (pour permettre un temps de stase suffisant dans la vessie) et avant toute antibiothérapie.

**b. Conservation et transport de l'urine :**

L'échantillon peut rester au minimum 30 minutes à température ambiante et 4 heures au réfrigérateur à + 4°C afin d'éviter la multiplication des germes qui est extrêmement rapide (une division toutes les 45 minutes à température ambiante).

**c. Indications de l'ECBU :**

L'ECBU est indiqué dans toutes les situations d'infections urinaires à l'exception des cystites aiguës simples d'évolution favorable ou la bandelette urinaire peut suffire, si elle est négative, à exclure l'infection.

Le dépistage par ECBU des colonisations urinaires n'est indiqué que pour certaines populations présentant des risques élevés de complications justifiant un traitement, telles que les femmes enceintes et les personnes devant avoir une manœuvre invasive sur l'arbre urinaire. (AFSSAPS, 2008)

**Tableau 2:** Interprétation des résultats de l'ECBU (DUNNE W, 1995)

Leucocytes/ml	Bactéries/ml	Culture	Interprétation
≤ 10 000	< 1000	-	urines normales
> 10 000	≥ 100 000	+	IU certaine
> 10 000	≥ 1000 et < 100 000	+	IU possible, à recontrôler (urétrite, prostatite chronique)

> 10 000	< 1000	-	IU décapitée par ATB Penser aussi aux tuberculose, bilharziose, néphropathie interstitielle chronique, uréthrite, tumeur urothéliale, lithiase, germes exigeants
≤ 10 000	> 1000	+	Souillures, surtout si espèces de germes multiples. Recontrôler CBU

### **I.7.2. Test de la bandelette urinaire**

Elle constitue une méthode semi quantitative de dépistage des infections urinaires.

Leur principe de fonctionnement repose sur la détection de la leucocyturie par dosage de la leucocyte estérase produite par les polynucléaires neutrophiles d'une part et des nitrites dus à l'action d'une nitrate réductase bactérienne (entérobactéries) d'autre part. C'est un test relativement sensible puisqu'il permet la détection à des taux de respectivement  $10^4$ UFC/ml et  $10^5$ UFC/ml. (Fiche de lecture en annexe )

Une bandelette est considérée comme négative si ni la leucocyturie ni les nitrites ne sont détectables. Il est alors possible d'exclure avec une excellente probabilité le diagnostic d'infection. Une bandelette est considérée comme positive si il y a une leucocyturie et /ou des nitrites. Cette positivité n'affirme en aucun cas le diagnostic d'infection urinaire mais doit être considérée comme ayant seulement une valeur d'orientation.

Il existe des cas de faux négatifs pour le test des nitrites en cas de :

- Bactériurie faible (dilution des urines, séjour des urines dans la vessie moins de quatre heures, compte de bactéries trop faible)
- Régime restreint en nitrates, pH urinaire acide ou traitement diurétique
- Infection causée par certaines bactéries non productives de nitrites comme les infections à streptocoques, entérocoques, *Acinetobacter spp.* ou *S. saprophyticus*. (Crutchet A, 2016).

## I.8. Traitements des infections urinaires

Le traitement des infections urinaires vise principalement à éliminer les agents infectieux du tractus urinaire.

### I.8.1 Traitement des infections urinaires bactériennes

En cas d'infection urinaire bactérienne on utilise des antibiotiques. Lorsqu'il s'agit d'une infection simple, les antibiotiques (en général utilisés) sont la *sulfaméthoxazol-triméthoprime*, *l'amoxicilline*, *l'ampicilline* et les antibiotiques de la classe des quinolones (*ciprofloxacine*, *norfloxacine* et *lévofluoxatine*). En cas de cystite on utilise également toujours plus la *fosmoycine* qui présenterait certains avantages.

Parfois d'autres antibiotiques comme les céphalosporines peuvent être utilisés. En général, les symptômes disparaissent dans les premiers jours de traitement, mais il est important de suivre les recommandations du médecin et de terminer le traitement antibiotique même si les symptômes ont disparu pour s'assurer d'éliminer toutes les bactéries pathogènes et de ce fait limiter les résistances aux antibiotiques.

Le médecin peut aussi prescrire des antalgiques notamment lorsque le patient ressent une douleur. Des antipyrétiques (en cas de fièvre), des antispasmodiques ou encore des anti-inflammatoires peuvent être prescrits.

### I.8.2 Traitements des infections urinaires fongiques

Quand l'infection urinaire est causée par un champignon, on utilise alors de préférence le *fluconazol*. *L'amphotéricine B* est utilisée lorsque la réponse au *fluconazol* n'est pas satisfaisante. (Bergogne-Bérézin E, 2006).

## II. Les infections de l'appareil génital

Notons que nous n'appréhenderons ici que les pathologies les plus fréquentes de la sphère basse de l'appareil génital.

### II.1 La vaginose bactérienne

#### II.1.1 Définition :

La vaginose bactérienne est une infection très fréquente chez les femmes en âge de procréer, traduisant un déséquilibre profond de l'écosystème vaginal. En dehors de la grossesse, c'est une pathologie bénigne, mais qui peut avoir un retentissement psychologique important chez les femmes pour qui la vaginose bactérienne devient une pathologie chronique et récidivante. (Bohot et Lepargneur, 2012 ; Livengood, 2009).

#### II.1.2 Epidémiologie :

La vaginose bactérienne est l'infection vaginale la plus commune chez les femmes en âge de procréer (Turovskiy et al, 2011). Sa prévalence varie entre 15 et 30% (Bohbot et Lepargneur, 2012).

En effet, beaucoup de facteurs doivent être pris en compte. En fonction de la zone géographique, de l'âge des patientes, de leur niveau socio-économique et de leur ethnie on retrouve des résultats très différents (Bohbot et Lepargneur, 2012).

#### II.1.3 Physiopathologie

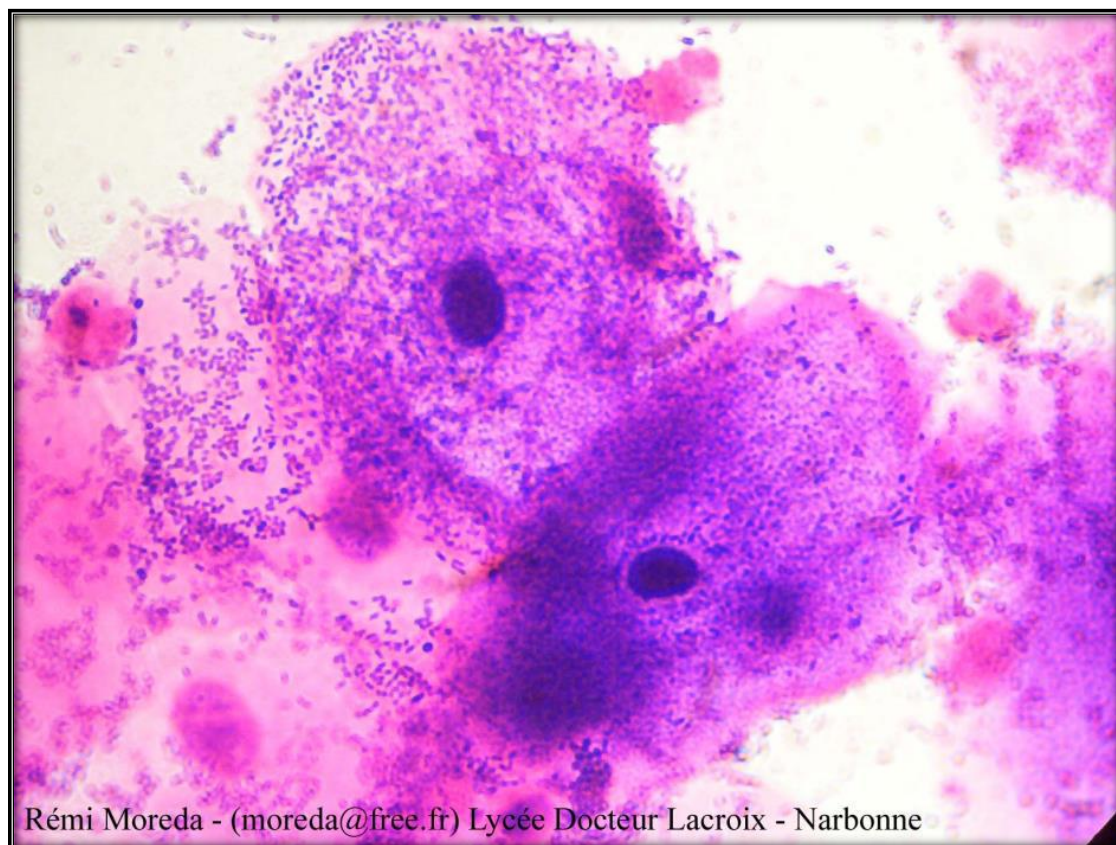
Le mécanisme de survenue de la vaginose bactérienne n'est pas clairement connu cependant, les auteurs semblent s'accorder sur le fait qu'elle est synchronisée à une déplétion des populations de *Lactobacilles* du microbiote vaginal. Les populations bactériennes sont alors multipliées par 1000, et le microbiote devient hautement diversifié.

Il faut également noter que la vaginose bactérienne est une pathologie polymicrobienne : la présence de *Gardnerella vaginalis* seule n'est pas suffisante pour provoquer les symptômes.

C'est en effet une flore dont le polymorphisme semble être la source. (Turovskiy et al, 2011).

#### II.1.4 Les principaux agents pathogènes

- *Gardnerella vaginalis* : C'est une bactérie commensale de la cavité vaginale présente dans 90% des épisodes de vaginose. Elle présente une forte adhérence cellulaire limitée en période physiologique par le biofilm lactobacillaire. Cette compétence fait d'elle l'élément le plus virulent parmi ceux responsables de vaginose. (Machado A, 2013), Fig 03:



**Figure 3:** frottis vaginal avec présence de cellules indicatrices (grand nombre de *G. vaginalis* fixées sur des cellules épithéliales). (Nugent et al., 1991).

- *Mobiluncus spp*

Ce sont des anaérobies inconstantes dans le tableau de vaginose. Leur prévalence est d'environ 50% des cas. Ce sont des bacilles à Gram positif mais apparaissant souvent variables ou négatif du fait de la faible épaisseur du peptidoglycane au niveau de la paroi bactérienne, induisant une facilité de décoloration. Leur forme est incurvée et ils sont mobiles à l'état frais. (Denis et al, 2011).

➤ *Atopobium vaginae*

C'est un bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif. Son identification peut être confondue avec des lactobacilles ou certains streptocoques. *Vaginae* et *Mobiluncus* sont souvent mis en cause dans les vaginose récidivantes du fait de leur fréquente résistance au métronidazole. (Livengood CH, 2009).

➤ *Mycoplasmes*

Trois espèces sont reprobées au sein de la flore vaginale normale : *Ureaplasma urealiticum*, *M. hominis* et *M. génitalium*. Le premier est majoritairement présent dans la cavité vaginale avec une prévalence de 50%, les deux autres étant beaucoup plus rares. Leur croissance donne de petites colonies à l'aspect d'oeuf au plat dû à la pénétration des colonies dans la gélose. (Bébéar C et Bébéar CM, 2011).

## II.1.5 Les facteurs favorisant le déséquilibre de la flore vaginale

### a. La douche vaginale :

Une douche vaginale est l'injection d'un liquide dans le vagin dans un but thérapeutique ou hygiénique, à l'aide d'une poire à lavement. Le liquide peut être de l'eau, de l'eau mélangée à du vinaigre, ou des produits antiseptiques.

Le lien de causalité entre les douches vaginales et la vaginose bactérienne a été démontré. En effet, la prévalence de vaginose bactérienne est accrue chez les femmes ayant cette pratique (Klebanoff et al, 2010). La pratique des douches vaginales aurait pu être une réponse aux symptômes de la vaginose bactérienne, en particulier à la mauvaise odeur vaginale constante et indisposante. Il semble cependant qu'elle ne fasse qu'accroître le déséquilibre de la flore.

### b. Le stress :

Il a été démontré que le stress psychosocial influencerait sur la survenue de la vaginose bactérienne. Plus que dans le maintien de l'infection, il aurait une véritable action pour favoriser le déclenchement de l'infection. Le mécanisme exact est mal connu mais le stress aurait une influence sur le fonctionnement du système immunitaire, entraînant une sensibilité accrue de l'organisme à l'infection (Nansel et al, 2006).

**c. La sexualité :**

Le risque de survenue de vaginose bactérienne est accrue chez une femme multipliant les partenaires sexuels ou lorsqu'une femme a un nouveau partenaire sexuel. L'augmentation de ce risque peut notamment être expliquée par la présence du sperme dans la cavité vaginale qui entraînerait un déséquilibre de la flore (Smart et al, 2004)

**d. Le tabac :**

Le tabac est un facteur de risque incontestable de la vaginose bactérienne. Les femmes fumeuses ont des taux d'oestradiol circulants inférieurs à ceux des femmes non-fumeuses, ce qui pourrait expliquer le risque augmenté de vaginose bactérienne chez les femmes fumeuses, sachant que les oestrogènes garantissent l'équilibre de la flore vaginale via la synthèse de glycogène et la production d'acide lactique (Wilson et al, 2007).

De plus, les composants toxiques de la fumée de cigarette se retrouvent au niveau du mucus vaginal, favorisant la suppression des lactobacilles producteurs de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Livengood, 2009).

**e. La contraception :**

De nombreuses recherches ont été effectuées sur une possible influence des différentes méthodes contraceptives sur l'équilibre de la flore vaginale. L'utilisation des dispositifs intra-utérins a été largement considérée comme facteur de risque de vaginose bactérienne.

**f. L'ethnie :**

Le risque de vaginose bactérienne semble plus important chez les femmes africaines (Klatt et al, 2010). Les femmes de race noire ont trois fois plus de risque d'être touchées par la vaginose bactérienne que les femmes de race blanche (Bodnar et al, 2009). La flore vaginale de ces femmes est moins protectrice : les lactobacilles sont plus rares et sont remplacés par d'autres bactéries. (Zhou et al, 2007).

**g. Le niveau socio-économique :**

Un niveau socio-économique bas favoriserait l'infection *G. vaginalis* et les bactéries anaérobies (Turovskiy et al, 2001).

### II.1.6 Les signes cliniques

Le diagnostic de vaginose est posé dans un premier temps par le tableau clinique correspondant à au moins trois des critères d'Amsel. Le prurit et les sensations douloureuses sont rares ou modérées si présentes. La visualisation de cellules indicatrices à l'examen microscopique direct à l'état frais permet d'orienter le diagnostic.

Les facteurs influençant l'apparition de la maladie sont les mêmes que pour les infections urinaires : tout élément agissant sur les populations lactobacillaires (douches vaginales, savons, traitements antibiotiques), la production hormonale (ménopause, tabac), ou le pH vaginal (rapports sexuels, spermicides) sont susceptibles de favoriser l'apparition d'épisodes. (Donders GGG, 2007; Livengood CH, 2009; Bergogne-Bérézin E, 2007; Askienazy-Elbhar M, 2005).

Classiquement, la vaginose bactérienne se définit à partir des critères d'Amsel par :

- La présence de leucorrhées blanc-grisâtres, fluides, homogènes et adhérent à la muqueuse vaginale ;
- Une odeur caractéristique de "poisson pourri".
- Un pH vaginal, mesuré au niveau des culs-de-sac latéraux et antérieurs de la cavité vaginale, supérieure à 4,5 ;
- La présence à l'examen direct des sécrétions vaginales de cellules caractéristiques nommées "clue-cells" ; il s'agit de cellules épithéliales exfoliées recouvertes de petits bacilles leur donnant alors un aspect de cible.

### II.1.7 Le diagnostic

Le diagnostic de vaginose bactérienne peut être posé lorsque trois des quatre critères d'Amsel sont présents.

Un médecin peut détecter la vaginose bactérienne à l'aide de quelques tests simples. Il examine l'apparence et la couleur des sécrétions vaginales. Les sécrétions normales sont généralement blanches ou transparentes tandis que chez les femmes qui souffrent de vaginose bactérienne, elles sont souvent laiteuses, peu épaisses et parfois abondantes.

On peut également mesurer l'acidité des sécrétions vaginales au moyen d'un papier pH. Les femmes avec une vaginose bactérienne ont un pH élevé

comparativement au pH plus acide protecteur que l'on retrouve dans les sécrétions vaginales normales.

On peut aussi sentir les sécrétions vaginales pour voir si elles émettent une odeur désagréable après l'ajout d'un agent chimique appelé hydroxyde de potassium. Enfin, le médecin peut examiner au microscope un échantillon de sécrétions vaginales afin de détecter des cellules appelées bâtonnets courts, lesquels indiquent la présence d'une vaginose bactérienne. Parfois, on peut déceler une vaginose bactérienne au cours de l'examen vaginal de routine. (Bergogne-Bérézin E, 2007).

## II.1.8 Traitement

Les schémas thérapeutiques recommandés pour la vaginose bactérienne sont le métronidazole (par voie orale ou vaginale) ou la clindamycine (par voie vaginale).

Bien que ces options thérapeutiques produisent un taux de guérison acceptable immédiatement après le traitement, les récives sont fréquentes dans les semaines ou les mois qui suivent. Parmi les effets indésirables, on note une résistance au traitement fréquent (BRADSHAW 2006, ODUYEBO 2009).

Selon les estimations, les taux de récive atteignent jusqu'à 30% à 3 mois et jusqu'à 80% à 9 mois. Ils nécessitent l'administration répétée d'antibiotiques. Cette exposition répétée aux antibiotiques majore le risque d'émergence de souches résistantes, l'altération du microbiote, et une persistance potentielle des pathogènes associés à la vaginose bactérienne (SOBEL 2006, SENOK 2009).

Les taux de guérison observés cliniquement avec le métronidazole sont en contradiction avec les données *in vitro* rapportées par *Beigi et al.*, qui ont déterminé une sensibilité au métronidazole de cultures vaginales jusqu'à 3 mois après le traitement de la vaginose bactérienne. Ils ont également démontré une résistance au métronidazole dans moins de 1% de l'ensemble des isolats anaérobies (BEIGI 2004).

## II.2 La vaginite à candida

### II.2.1 définition

C'est une pathologie infectieuse due à une levure du genre candida, affectant un grand nombre de femmes en âge de procréer. Cette pathologie peut devenir chronique, on parle alors de candidose vulvo-vaginale récidivante, caractérisée par la survenue de plus de quatre épisodes infectieux par an.

### II.2.2 Epidémiologie

La vulvo-vaginite mycosique est l'une des infections gynécologiques les plus fréquentes chez la femme en période d'activité génitale, constituant le second motif de consultation après la vaginose bactérienne en gynécologie infectieuse (Amouri et al, 2010). Au cours de leur vie, 75 % des femmes sont touchées par au moins un épisode de candidose vulvo-vaginale. On estime que 40 à 50 % d'entre elles souffrent de plus d'un épisode au cours de leur vie et que 5 à 10 % développent une candidose vulvo-vaginale récidivante (Anane et al, 2010). La survenue d'un épisode récidivant se déclare en moyenne 20 jours à trois mois après la fin du traitement chez 50 % des femmes (Amouri et al, 2010).

### II.2.3 Physiopathologie

Trois étapes sont indispensables dans la pathogenèse des candidoses. Ce sont **l'adhésion, la formation des filaments et l'invasion épithéliale**. L'adhésion aux épithéliums permet la colonisation de l'hôte, pré-requis indispensable à l'apparition de l'infection.

Ces levures sont capables de modifier leur morphologie pour permettre l'invasion des tissus. Elles passent d'une forme blastospore (arrondie ou ovale) non pathogène quand elle est en faible quantité, à une forme filamenteuse (bourgeonnement permettant à la levure son adhérence et son invasion dans les tissus). S'ensuit une multiplication des *Candida* ainsi que la formation d'un biofilm sur les muqueuses rendant la levure moins accessible aux antifongiques. Les *Candida* sont également capables d'exprimer des facteurs de virulence pour favoriser l'invasion tels que des protéinases et des phospholipases. (Develoux M et Bretagne S, 2005).

### II.2.4 L'agent pathogène : *Candida albicans*

L'agent pathogène le plus souvent en cause est *Candida albicans* (90% des cas) et plus rarement *C. glabrata*. C'est une levure commensale du microbiote vaginal, vivant habituellement à l'état saprophyte sous une forme blastospore (levure). Lorsqu'elle devient pathogène, elle développe des pseudo-filaments voire des filaments (contrairement à *C glabrata*).

*C. albicans* est une levure opportuniste de la muqueuse vaginale qui peut passer de l'état commensal à l'état pathogène suite à une perturbation de l'équilibre entre le système immunitaire de l'hôte au niveau de la muqueuse vaginale et les mécanismes de virulence du champignon. La rupture de cet équilibre induit l'expression des facteurs de virulence par la levure et la colonisation de la muqueuse vaginale. (Amouri I et al, 2010).

### II.2.5 Les manifestations cliniques

La symptomatologie clinique n'est pas spécifique: prurit et leucorrhées associés à un érythème, voire un œdème vulvaire. Cela est très évocateur lorsque les leucorrhées sont très blanches et adhérentes (aspect de lait caillé). La survenue de brûlures ou de dyspareunie n'évoque pas une candidose vulvo-vaginale, mais cette dernière peut cependant être présente.

Ces symptômes traduisent une réaction locale d'hypersensibilité immédiate avec synthèse d'IgE spécifiques et libération d'histamine. L'interrogatoire précise la période de survenue des symptômes au cours du cycle menstruel et leur siège exact, interne et/ou externe (vulvite et/ou vaginite).

### II.2.6 Les facteurs favorisants

La candidose vulvo-vaginale est multifactorielle. Elle peut être la conséquence de l'exposition de la femme à l'un des facteurs de risque suivants :

#### a. Estrogènes

C'est une pathologie hormono-dépendante. La grossesse et une contraception orale riche en estrogène augmentent le risque de la colonisation vaginale et de manifestations symptomatiques. Une augmentation du taux d'estrogène induit celui du glycogène, source de carbone, favorisant la croissance du *Candida* et son adhérence aux cellules épithéliales. (Špaček J et al, 2007).

#### b. Diabète :

Le diabète non contrôlé prédispose à la candidose. En effet, le glucose favorise l'adhésion du *Candida* aux cellules épithéliales, stimule son développement et active l'expression des facteurs de virulence. (Amouri et al., 2010)

#### c. Antibiothérapie à large spectre

Une candidose symptomatique suit fréquemment une antibiothérapie locale ou systémique qui va éliminer la flore bactérienne protectrice de la muqueuse vaginale permettant ainsi une croissance du *Candida*. (Amouri et al., 2010).

#### d. HIV

La candidose paraît être plus fréquente et plus persistante chez les femmes HIV positive donc un système immunitaire affaibli. (Ohmit et al, 2003).

#### e. Facteurs génétiques

Il existe de façon empirique un risque de sensibilité accrue aux vaginites à *Candida* avec l'existence d'antécédents familiaux. (Amouri et al., 2010).

#### f. Facteurs associés aux comportements

L'hygiène vestimentaire (sous-vêtements synthétiques et vêtements serrés), intime (utilisation fréquente de produits antiseptiques) ainsi que la fréquence des pratiques sexuelles, émergent comme facteurs potentiels de la candidose.

#### g. Contraception mécanique

Les contraceptifs mécaniques (dispositif intra-utérin (DIU), anneau vaginal) contribuent à la pathogénèse. Des études récentes témoignent que *C. albicans* possède une grande capacité d'adhésion et de production de biofilm à la surface du DIU, lui permettant d'échapper à l'immunité de l'hôte et de réduire leur sensibilité aux antifongiques, Fig 04 :

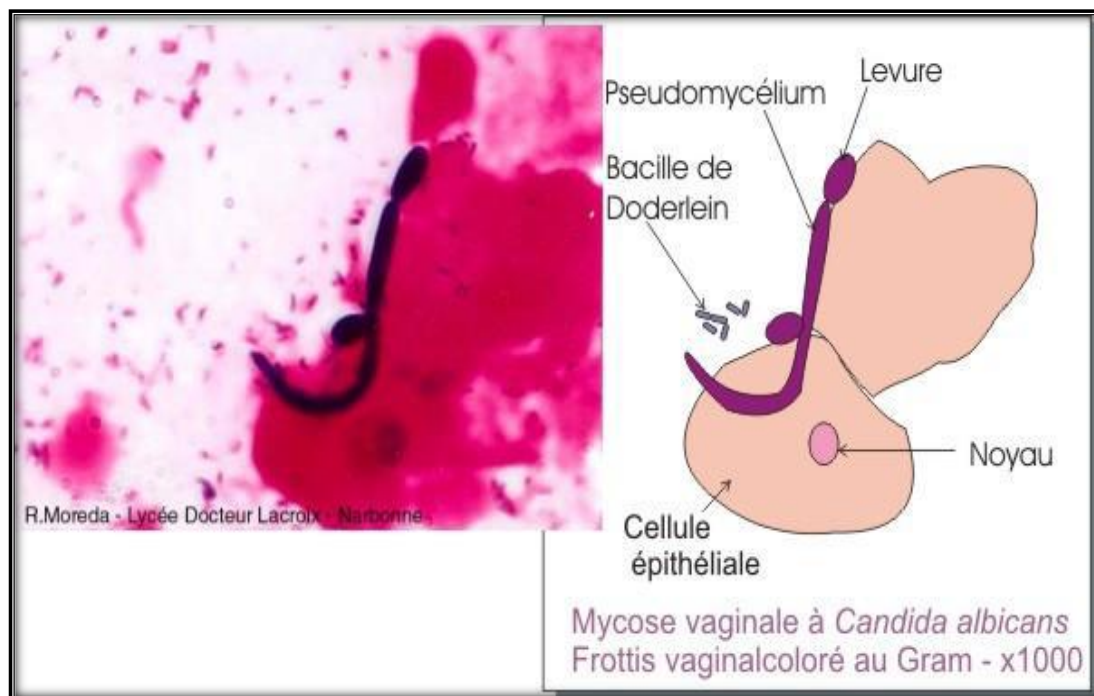


Figure 04 : mycose vaginale à *candida alnicans*

<http://www.microbiologybook.org/mycology/mycology-3.htm> .

## II.2.7 Le diagnostic

### a. Diagnostic biologique

En cas de vulvo-vaginite aigue, sans contexte de récurrence, l'examen clinique permet à lui seul de faire le diagnostic. Devant un tableau de candidose vulvo-vaginale récurrente, il est nécessaire de réaliser un prélèvement vaginal qui permettra d'identifier l'agent pathogène responsable de la symptomatologie et de mettre en place une stratégie thérapeutique optimale (Bohot, 2007).

### b. Prélèvement :

On réalise un prélèvement des lésions cutané-muqueuses au niveau vaginal à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié à l'eau distillée stérile. On effectue deux prélèvements, l'un sera destiné à l'examen direct, l'autre servira pour réaliser une culture de l'échantillon (Université médicale virtuelle francophone, 2010-2011). Ils doivent être acheminés immédiatement au laboratoire car les levures se multiplient très rapidement (ANOFEL, 2010).

### c. Examen direct :

Une fois le prélèvement arrivé au laboratoire, on réalise un examen direct de l'échantillon qui permet une orientation diagnostique rapide et fiable. Pour cela, on réalise l'état frais de l'échantillon. L'examen microscopique révèle alors des cellules rondes et ovoïdes, de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, à bourgeonnement polaire correspondant aux levures et la présence de pseudo mycélium (espèces non-*albicans*) ou de mycélium (espèce *albicans*) (ANOFEL, 2010).



**Figure 5:** Examen direct d'un prélèvement vaginal (levures et blastospores)

<http://campus.cerimes.fr/media/campus/deploiement/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/images/figure9.jpg?v=1.0.0>



**Figure 6:** Examen direct d'un prélèvement vaginal (levures et filament)

<http://campus.cerimes.fr/media/campus/deploiement/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/images/figure10.jpg?v=1.0.0>

#### d. Culture et identification des levures :

La culture est réalisée sur une gélose au sang ou sur un milieu de Sabouraud glucosé auquel on additionne des antibiotiques (gentamicine par exemple), ce qui permet d'inhiber la croissance des bactéries (ANOFEL, 2010).

Après 24-48 heures d'incubation à 37 ° C, on observe la formation de colonies de quelques millimètres de diamètre, de couleur claire, blanche, crème ou beige, d'aspect crémeux, de surface lisse et luisante ou de surface mate et plissée (figure 07). (Dolerome et Robert, 1997).



**Figure 07:** culture de *Candida albicans*.

<http://campus.cerimes.fr/media/campus/deploiement/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/images/figure11.jpg?v=1.0.0>

#### e. L'antifongigramme :

Il permet d'identifier les antifongiques auxquels est sensible la levure isolée. La réalisation de ce test est discutée car il y a peu de résistance des levures aux antifongiques.

## II.2.8 Traitement

### a. Traitement de l'épisode aigu

La prise en charge d'une candidose vulvo-vaginale aiguë consiste en général à la mise en place d'un traitement locale de courte durée. Ce traitement fait appel à des antifongiques locaux de la famille des imidazolés qui possèdent un large spectre. Ils sont actifs sur *candida*. L'association d'un ovule ou d'une capsule vaginale à une crème vaginale est essentielle pour traiter à la fois la symptomatologie vaginale et vulvaire. La voie orale peut également être utilisée ; dans ce cas, on utilise également les antifongiques azolés (*fluconazole* ou *itraconazole*). (Amouri et al, 2010).

### b. Traitement de la candidose vulvo-vaginale récidivante :

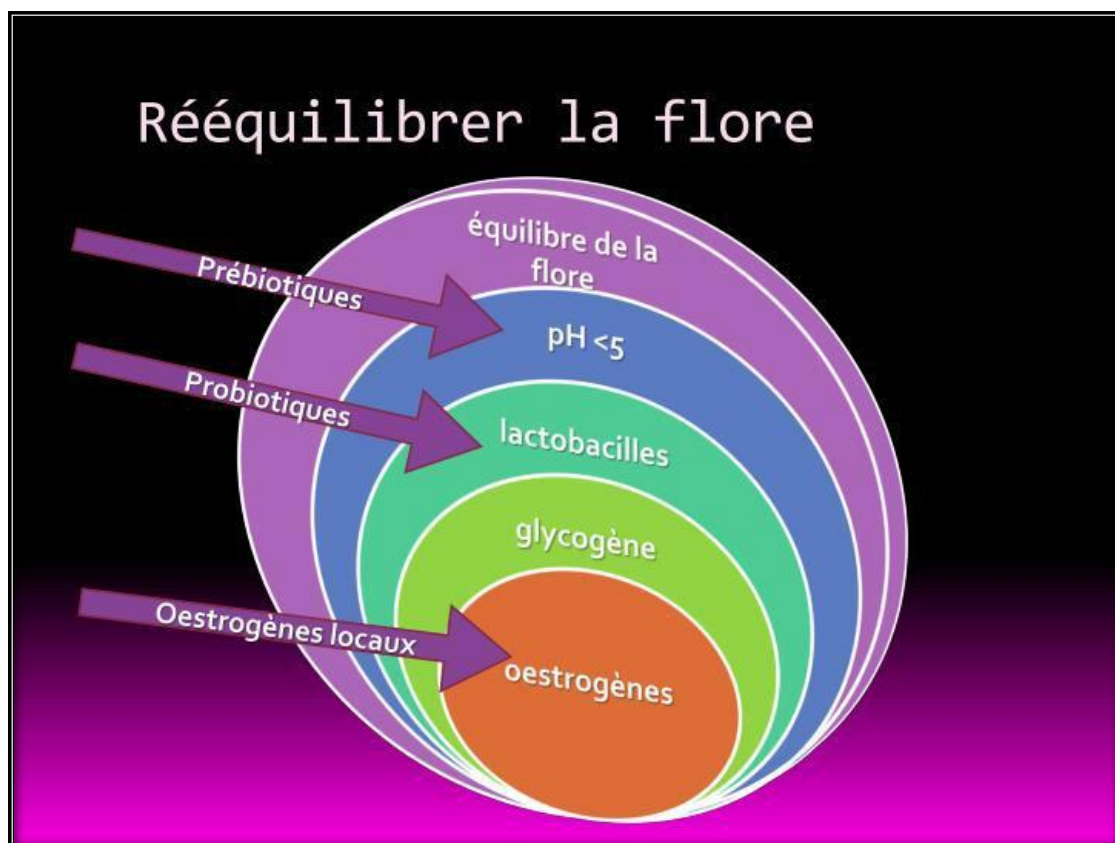
Les récurrences de candidoses vulvo-vaginales touchent 5 à 10 % des femmes et peuvent considérablement perturber leur vie sociale et sexuelle. Avant d'entreprendre un traitement pour une candidose vulvo-vaginale récidivante, il est essentiel de confirmer le diagnostic par culture, d'exclure et de corriger les facteurs de risques.

Un traitement intensif par voie locale pendant 14 jours sera mis en place, associé à la prise de 150 mg de *fluconazole* par voie orale le jour de la récurrence. Ensuite un traitement d'entretien au long cours pour éviter les récurrences (*fluconazole* par voie orale pendant 6 mois). (Donders et al, 2010).

La partie précédente nous a permis de comprendre que les diverses pathologies urogénitales féminines trouvent le plus souvent leur origine dans les déséquilibres de notre flore. Si les traitements antibiotiques actuels des infections vaginales et urinaires sont toujours efficaces, la réduction du nombre de nouvelles molécules mises sur le marché associée au développement des antibiorésistances laissent envisager des complications futures dans les moyens de prise en charge de ces pathologies. L'utilisation de nouvelles stratégies thérapeutiques autant préventives que curatives par les souches probiotiques semble constituer une alternative encourageante en vue de restaurer et maintenir la santé du microbiote urogénital chez les femmes.

### **I. Définition et rôle des différents traitements utilisés pour rééquilibrer la flore vaginale.**

Comme présenté dans le premier chapitre, l'équilibre de la flore vaginale est assurée à différents niveaux : dans un premier temps, la production d'oestrogènes permet d'obtenir une charge glyco-génique suffisante, constituant une source nutritive essentielle pour les lactobacilles qui à leur tour produiront par hydrolyse de l'acide lactique au sein de la cavité vaginale. En cas de dysbiose, la thérapeutique peut s'appuyer sur l'apport hormonal, les lactobacilles avec des probiotiques, et en jouant sur le pH grâce aux prébiotiques. La figure suivante illustre les cibles thérapeutiques visant à rééquilibrer la flore vaginale. (Spear GT et al, 2014). Fig 08 :



**Figure 08** : les différents niveaux d'action pour rééquilibrer la flore urogénitale  
<http://www.slideserve.com/marlo/infections-uro-genitales-de-la-femme>

## II. Les probiotiques

### II.1 Définition

D'après la FAO et l'OMS, les probiotiques sont des microorganismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels. (Gordon JI et Klaenhammer TR, 2011; Ravel J et al, 2011).

Ils peuvent être présents ou introduits dans certains aliments (compléments alimentaires) ou encore dans certains médicaments (ex : Lactéol® contenant des *Lactobacillus LB*). Les probiotiques les plus connus sont les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*) et les Bifidobactéries, largement utilisés dans les yaourts et autres produits laitiers fermentés. (Spear GT et al, 2014).

## II.2 Les critères de sélection

Les micro-organismes doivent posséder diverses propriétés de survie pour répondre à la définition des probiotiques. Ils doivent présenter une activité positive et persister durant leur passage dans le tractus digestif (probiotique intestinal), et résister à l'écosystème vaginal.

Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolables d'une souche à l'autre même au sein d'une même espèce. Plusieurs critères de sélection ont été établis par différents auteurs dont le but de sélectionner les souches potentiellement probiotiques.

Ces critères, résumés dans le tableau, sont répartis en trois catégories, à savoir les critères de sécurité, fonctionnels, et technologiques. Chaque souche doit être identifiée par les techniques moléculaires fiables et confrontée à une nomenclature actualisée. Actuellement, le séquençage du gène qui code pour l'ADN ribosomal 16S est la méthode moléculaire de référence pour identifier l'espèce d'une souche, mais cette méthode requiert une large collection de souche de référence.

L'origine de la souche est également une condition importante car l'interaction spécifique avec l'hôte est maximisée lorsqu'elle provient de la même niche écologique.

**Tableau 3** : critères de sélection des probiotiques. (Reid G, 2005; Iaconelli C et al, 2005).

<b>Critères de sécurité</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Identification taxonomique précise</li><li>- Origine humaine pour l'utilisation chez l'humain</li><li>- Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques</li><li>- Historique de son pathogénicité et non invasion des épithéliums</li><li>- Pas de transmission de gènes de résistance aux antibiotiques.</li></ul>
-----------------------------	--

<b>Critères fonctionnels</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives</li><li>- Adhésion aux cellules intestinales et persistance au niveau des muqueuses</li><li>- Production de substances antimicrobiennes et antagonisme envers les pathogènes</li><li>- Immunomodulation</li><li>- Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé.</li></ul>
<b>Critères technologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Stabilité au cours des procédés de production</li><li>- Conservation des propriétés probiotiques après production</li><li>- Non modification des propriétés organoleptiques du produit fini.</li></ul>

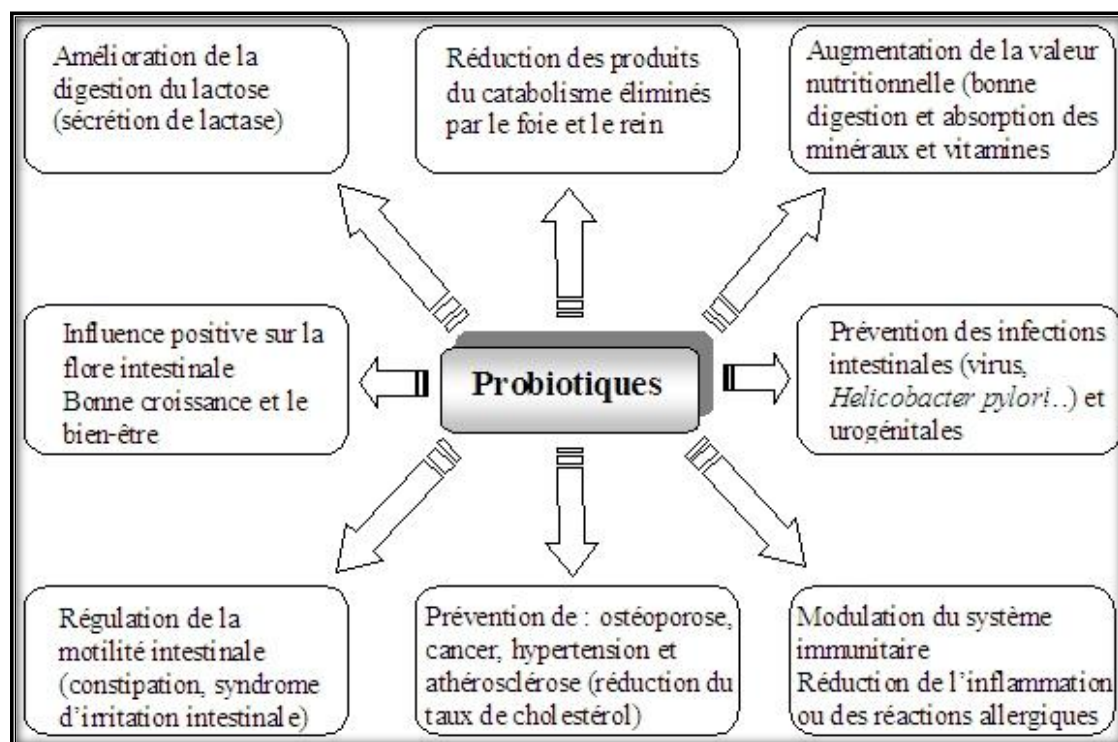
### **II.3 Les souches à action probiotique**

Les principales souches reconnues en tant que probiotiques chez l'humain sont des bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et des levures du genre *Saccharomyces*. Les espèces associées à chacun de ces groupes sont présentées dans le tableau suivant. Parmi ces microorganismes, les bactéries appartenant aux deux premiers genres sont les plus fréquemment utilisées dans la majorité des applications connues à ce jour chez l'humain.

Au niveau urogénital, l'action probiotique repose le plus souvent sur les capacités antimicrobiennes des lactobacilles et plus spécifiquement de certaines souches : *L. reuteri* RC- 14, *L.casei* ssp *Rhamnosus* Lcr35 et GR1, largement ciblées dans la littérature. Leur nature correspond en fait à la stratégie préférentielle de restauration de la flore dont la perturbation est à l'origine des manifestations pathologiques. (De Champs C et al, 2003).

## II.4 Effets bénéfiques des probiotiques

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques. La figure illustre la diversité des effets sur la santé documentés et rapportés dans la littérature. L'apport de probiotiques doit être régulier. Les probiotiques sont souvent considérés comme des aliments fonctionnels ou des compléments alimentaires, mais pas comme des médicaments. (Fig 9).



**Figure 09** : les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques. (Iaconelli C et al, 2005).

## II.5 Mécanisme d'action contre les pathogènes

### II.5.1 Mécanisme antibactérien :

Pour pouvoir être utilisées comme probiotiques en vue du traitement ou de la prévention des infections génitales, les souches de lactobacilles sélectionnées doivent présenter une activité antimicrobienne. (Barrons R et Tassone D, 2008).

Dans ce contexte, une des propriétés les plus importantes est la capacité de maintenir le pH vaginal en dessous de 4,5. A ce jour, seule la production d'acide lactique a été démontrée *in vivo* et constitue de fait le seul mécanisme d'action

scientifiquement incontestable. (Barrons R et Tassone D, 2008 ; Spurbeck RR, Arvidson CG, 2011).

Un environnement vaginal acide, propice à la réplication des lactobacilles, entraîne indirectement la production de substances antibactériennes supplémentaires, dont le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines. Ce second mécanisme constitue une autre propriété recherchée lors de l'utilisation des probiotiques. Elle est notamment présente chez deux souches, *L. crispatus* et *L. reuteri* qui en ont fait la démonstration. (Reid G et Bruce AW, 2001).

D'autres capacités recherchées dans les souches probiotiques sont l'adhésion aux épithéliums, et la compétition avec les pathogènes en vue d'inhiber leur fixation et leur croissance. La souche *L. rhamnosus* regroupe ces propriétés avec en plus une bonne résistance au N-9 (Nonoxynol 9) retrouvé dans un certain nombre d'agents spermicides. D'autres espèces de lactobacilles, *L. acidophilus* et *L. delbrueckii*, semblent fortement diminuer l'adhérence de *Candida albicans*. (Falagas ME et al, 2006).

Concernant le mécanisme de co-agrégation, trois souches empêchent les pathogènes d'accéder aux récepteurs membranaires et aux épithéliums urogénitaux : *L. brevis*, *L. salivarius*, et *L. gasseri*. Enfin, une des souches majeures, *L. reuteri* RC-14 déjà évoquée, forte productrice de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, est également retrouvée dans beaucoup de préparations pour sa capacité à libérer des biosurfactants très actifs sur l'adhésion de *C. albicans*. (Falagas ME et al, 2006), Fig 10:

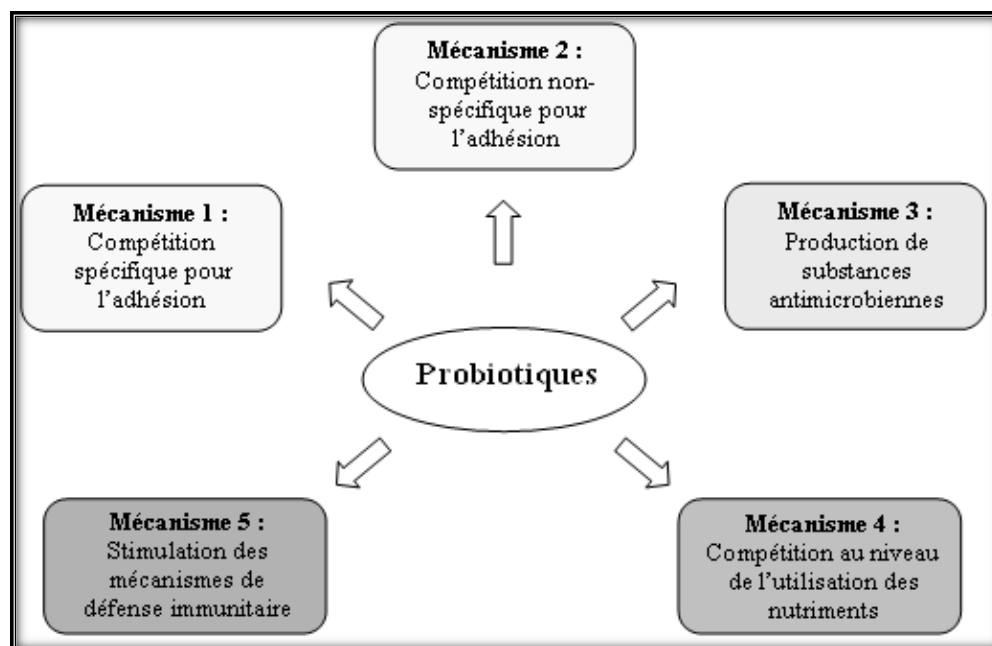


Figure 10 : les mécanismes d'action des probiotiques. (Iaconelli C et al, 2005).

### III. Les prébiotiques

Leur action est beaucoup plus étudiée au niveau intestinal mais elle peut facilement être extrapolée au microbiote vaginal. Il s'agit d'une « substance non digestible, qui induit un effet physiologique positif à l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le milieu ».

Cette définition rapportée à l'écosystème vaginal permet de définir les prébiotiques comme étant des substrats favorisant la multiplication et la croissance des lactobacilles vaginaux à l'origine d'une flore saine.

Enfin certaines substances considérées comme prébiotiques jouent un rôle d'acidifiant assurant un maintien du pH et une inhibition de la croissance des pathogènes. Ce sont par exemple l'acide lactique ou encore l'acide ascorbique. (Bohbot JM et Lepargneur JP, 2012).

#### **IV. Les symbiotiques**

Un composé symbiotique est un produit qui contient à la fois un (des) probiotique(s) et un (des) prébiotique(s). L'effet synergique n'est pas requis, mais il est possible que le prébiotique soit ajouté afin de favoriser la survie et l'activité des souches probiotiques. **(Gibson GR et Roberfroid MB, 2005).**

#### **V. Etudes d'efficacité des probiotiques vis-à-vis des pathologies urogénitales**

##### **V.1 Probiotiques et infections urinaires**

La colonisation urinaire par des bactéries pathogènes est en général d'origine fécale, leur remontée dépend de leur capacité d'adhésion. La reconstitution d'un biofilm par l'apport de lactobacilles au niveau vaginal induit aussi la colonisation périnéale et de l'urètre. La thérapeutique par rééquilibrage de cette flore par voie locale est à évaluer.

Par exemple avec les probiotiques seuls comme dans l'étude de Stapleton et al. portant sur une cohorte de 100 femmes avec un protocole *L. crispatus* versus placebo sur une durée de 10 semaines, des récurrences ont été observées dans 15% du groupe recevant le probiotique contre 27% avec placebo. C'est un résultat peu concluant, de plus larges échantillons ou des souches différentes pourraient être prometteuses. **(Stapleton AE, 2011).**

D'un autre côté, l'étude de la combinaison probiotiques (*L. acidophilus* et *bifidobacterium lactis*) et antibiotique (*nitrofurantoïne*) versus antibiotique seul sur 85 enfants sur une période de trois ans a montré une plus faible occurrence des infections urinaires avec l'association. **(Mohseni MJ, 2013).**

##### **V.2 Probiotiques et vaginose bactérienne**

En termes d'efficacité, les stratégies présentent plusieurs cas de figure :

- Probiotiques versus placebo : les résultats de ces tests sont en général encourageants malgré leur nombre restreint. Ils montrent en général un bon taux de guérison **(Mastromarino et al. Drago et al.)**

- Probiotiques versus antibiotique : elles sont plutôt contrastées car non standardisées.

Les résultats varient en fonction formes, des souches, des voies d'administration. Les antibiotiques restent cependant encore les plus efficaces devant un épisode de vaginose bactérienne. Cependant leur utilisation seuls présente un taux de récurrences très élevé.

- Récidives avec probiotiques seuls : leur utilisation en prévention entre deux épisode affiche de bons résultat que leur administration se fasse par voie vaginale ou orale. Les probiotiques ne suppriment donc pas les rechutes mais permet de les espacer. Ils constituent donc un soutient post-antibiotique en stabilisant la flore urogénitale.

(Larson et al., 2007)

- Probiotiques associés aux antibiotiques : la majorité des études cliniques semble aller dans le sens d'une association permettant d'améliorer le taux de guérison

- Probiotiques associés aux oestrogènes : il s'agit d'une formule réservée au traitement des vaginoses des femmes ménopausées et péri-ménopausées.

### **V.3 Probiotiques et candidose**

Les études cliniques d'efficacité des probiotiques, pour la prévention et le traitement des candidoses vaginales, donnent des résultats contrastés. Ainsi, une étude (Williams et al., 2001) réalisée chez 164 femmes infectées par le VIH montrait des résultats encourageants sur 21 mois avec 15% de candidoses dans le groupe recevant les probiotiques contre 32% pour le placebo. Parallèlement, l'équipe de Reid et al. montrait qu'il était possible de reconstituer rapidement une flore lactobacillaire normale chez des femmes souffrant de formes récidivantes par l'administration *per os* de souches de *L. rhamnosus* et *L. gasseri*

Les probiotiques ont également été testés dans la prévention des candidoses postantibiothérapie et n'ont pas toujours pu démontrer une quelconque efficacité. En revanche, leur administration avec le *fluconazole* permettrait d'améliorer les symptômes et de négativer plus rapidement les cultures. (Martinez RCR, 2009).

## **VI. Mesures d'accompagnement et de protection de la flore urogénitale**

Le recours aux probiotiques étant préconisé en prévention comme en complément des traitements antibiotiques sur des périodes de un à trois mois, il est possible de favoriser l'équilibre de la flore en adoptant certains comportements au quotidien.

### **VI.1 L'hygiène**

L'hygiène intime est une des clés indispensables afin de préserver l'équilibre du microbiote urogénital. Le nettoyage doit être quotidien mais non excessif, une à deux fois par jour suffisent. Les femmes doivent être orientées vers des produits adaptés, à

pH neutre et constitué de principes actifs doux et bien tolérés, en leur précisant que les savons liquides sont à utiliser sur la zone vulvaire et pas en douche vaginale (asséchante, alcalinisante et néfaste pour la flore) et doivent être rincés à l'eau. La zone doit être soigneusement séchée afin de limiter les phénomènes de macération pouvant favoriser le développement de certains pathogènes. (Crutchet A, 2016).

## **VI.2 Autres conseils**

Pour éviter la survenue d'infections génitales, les femmes doivent éviter de porter des vêtements trop serrés et privilégier les sous-vêtements en cotons plutôt que ceux en matières synthétiques qui favorisent la macération.

Pendant les règles, le port de serviettes hygiéniques, présentant moins de surface de contact entre bactéries et muqueuse, est préférable à l'insertion vaginale de tampons. Au cours des rapports sexuels, il est préférable d'utiliser des préservatifs, le sperme étant très alcalin et les spermicides altérant sans distinction les spermatozoïdes et la flore. En cas d'épisode infectieux, il est conseillé d'éviter les rapports sexuels autant pour permettre la reconstitution de la flore que pour éviter la contamination du partenaire. (Crutchet A, 2016).

## **I. Matériels**

### **I.1 L'objectif :**

Mettre en évidence l'activité antimicrobienne de bactérie lactique (*Lactobacillus Rhamnosus*) et antiseptique (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sur vis-à-vis *Candida albicans* agents pathogène responsable des quelques infections urogénitales (*Candida albicans*).

### **I.2. Présentation du lieu de l'étude expérimental**

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie N°03 site III (UMAB Mostaganem).

### **I.3. Matériel expérimental**

#### **I.3.1. les souches bactériennes**

##### **I.3.1.1. les souches lactiques**

La souche de *Lactobacillus Rhamnosus* provenant du laboratoire de recherche de Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques et aliments fonctionnels (LMBAFS)

##### **I.3.1.2. Les souches pathogènes**

La souche pathogène *Candida albicans* (ATCC 10231) d souche de référence.

### **I.4. Les milieux de culture**

Les différents milieux de culture utilisés sont :

- ❖ **Milieu MRS** bouillon, gélose et semi-solide : utilisé pour favoriser la culture des Bactéries lactiques du Genre *Lactobacillus Spp* (De Manne et al. 1960)
- ❖ **Milieu Sabouraud** bouillon, gélose et semi-solide : pour la culture des souches pathogènes (*Candida albicans*).

### **I.5. Appareillage**

- Autoclave
- Etuve bactériologique

- Vortex
- Balance de précision
- Bain marie
- Bec Bunsen.
- Centrifugeuse.
- Plaque chauffante.
- Haute à flux lumineuse.
- pH mètre à affichage numérique.

### **I.6. Solutions**

- ❖ Eau physiologique
- ❖ L'eau oxygénée
- ❖ Solution de NaOH (1N),
- ❖ Solution HCL 1N
- ❖ Huile à immersion

### **I.7. Verrerie et petit matériel**

- ❖ Pipettes Pasteur,
- ❖ Flacons en verre (de 250 ml),
- ❖ Tubes à essai, à visse en Verre,
- ❖ Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml ...),
- ❖ Boites de pétri en plastique,
- ❖ Béchers de 200, 500 et 1000 ml,
- ❖ Erlen Myers,
- ❖ Tubes à hémolyse en plastique (5ml),
- ❖ Burette,
- ❖ Tubes Ependorff.
- ❖ Micropipette.

## **II. Méthodologie utilisée**

### **II.1. La technique de réactivation des souches**

Les souches bactériennes ont été réactivées avant leur utilisation dans les tests d'inhibition à partir d'un stock de culture sur des milieux gélosés, réalisées sur milieu MRS liquide pour les bactéries lactiques et le milieu Sabouraud pour *Candida albicans* à raison de 05 ml de milieu de culture dans chaque tube ; ensuite, elles sont incubées à 25°C pendant 48 heures pour les levures et 37°C pendant 48h pour *Lactobacillus Rhamnosus*

### **II.2. Examen macroscopique de la souche pathogène**

Cet examen permet de constater la morphologie des colonies obtenues sur milieux solide. Ainsi, déterminer la forme, taille, couleur et aspect des colonies et sur milieu liquide présentant un trouble du milieu. (Johnson et al., 1980).

### **II.3. Examen microscopique**

Basé sur la morphologie des cellules bactériennes et leur mode d'association observés par microscope optique.

#### **➤ Observation microscopique à l'état frais**

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité des souches et d'en déceler la forme, bien que ce renseignement soit plus accessible sur des frottis colorés.

#### **➤ Technique de la préparation de l'état frais :**

- Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame,
- Prélever une fraction de colonies sur gélose/ bouillon,
- Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum,
- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air,
- Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).
- Observer à l'objectif 40.

- Après observation, jeter l'état frais dans un bac contenant un désinfectant car les germes sont vivants.

Des bactéries sont considérées comme mobiles lorsque des trajets très différents sont observés (déplacement dans toutes les directions). Une bactérie immobile est animée de mouvements d'agitation normaux appelés mouvements browniens, qu'il ne faut pas confondre avec la mobilité (Canler, 2005).

### **II.3.1. Technique de préparation des frottis :**

Avant toute coloration, il faut réaliser un frottis, c'est-à-dire un étalement et fixation des bactéries sur une lame. La technique du frottis est fort simple :

Le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination. On peut alors effectuer la coloration désirée.

#### **➤ Coloration simple (la fuchsine)**

Les champignons sont généralement colorés par le bleu coton. Nous avons coloré la souche *Candida albicans* par la fuchsine à défaut du bleu Cotton.

La coloration la plus informative est la coloration de Gram. Une coloration au bleu de méthylène peut apporter des informations concernant la morphologie des germes (Canler, 2005).

### **II.4. Conservation des souches**

Selon le temps de conservation désiré, les souches pures sont conservées de la manière suivante :

**Conservation à courte durée :** les cultures jeunes et après croissance bactérienne, sont conservées à 4°C au réfrigérateur (Kihal, 1996 ; Labioui et al., 2005).

**Conservation à long terme :** les souches pures sontensemencées en cultures jeunes sur milieux liquides, après incubation de 24h à température optimum :

Les souches sont conservées dans des micro tubes contenant un mélange de (600 µl de les cultures bactériennes et 400 µl de glycérol comme cryo-protecteur).

les micro tube sont conservées a -20 C° et -40 C° pour une durée plus longue.

### **I.5. Pouvoir antibactérien des souches**

Les nombreuses méthodes décrites pour la détection de souches lactiques productrices de bactériocines sont basées sur le principe que ces substances protéiques peuvent diffuser dans un milieu de culture solide ou semi-solide qu'on inocule préalablement avec une souche cible. La production de bactériocines est détectée par le pouvoir inhibiteur du filtrat du microorganisme testé sur la croissance du germe cible (Labioui, 2005).

#### **I.5.1. Préparation de l'inoculum**

La préparation des surnageant s'effectue par la mise en culture de la souche lactique qui sera par la suite centrifugée à 60000 tours/min pendant 10 min. on sépare le culot de la suspension dans des conditions stériles.

#### **III.5.2. Méthode des puits ADT (Agar well Diffusion Test)**

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide/bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments (Titiek et al., 1996 ; Labioui et al., 2005).

Pour la mise en évidence de la production de ces molécules par les souches testées, nous avons choisi La méthode de diffusion en puits ADT selon (Cintas et al., 1995) basées sur le principe que ces substances qui peuvent diffuser dans un milieu de culture semi-solide qu'on inocule préalablement avec une souche cible; le résultat se manifeste alors par l'apparition de zones d'inhibition autour des colonies.

Cette méthode consiste à couler la gélose de MRS en boites de pétrie de 90 mm de diamètre. Les boites sont ensuite mises à sécher pendant 15 min à la température

ambiante. Nous avons aménagé les cavités (puits) de 6 mm de diamètre (à l'aide d'une pipette pasteur / un embout stérile d'une micropipette) dans la gélose, puis nous avons remplis chaque puit par 100µl de :

- Culture de bactérie lactique (*Lactobacillus Rhamnosus*) cultivée dans un milieu de MRS bouillon.
- Peroxyde d'hydrogène.
- Une solution de thiosulfate de sodium : son utilisation est pour but de potentialiser l'effet anti-pathogène de bactéries lactiques.
- Ultra levure (renferme un champignon microscopique, une souche de levure probiotique qui favorise la restauration de la flore intestinale).
- Surnageant de bactérie lactique qui a été obtenu par centrifugation à 60000 tr/min pendant 10 min d'une culture bactérienne jeune de la même charge de souche cible.

On a réalisé cette méthode par deux types de surnageant :

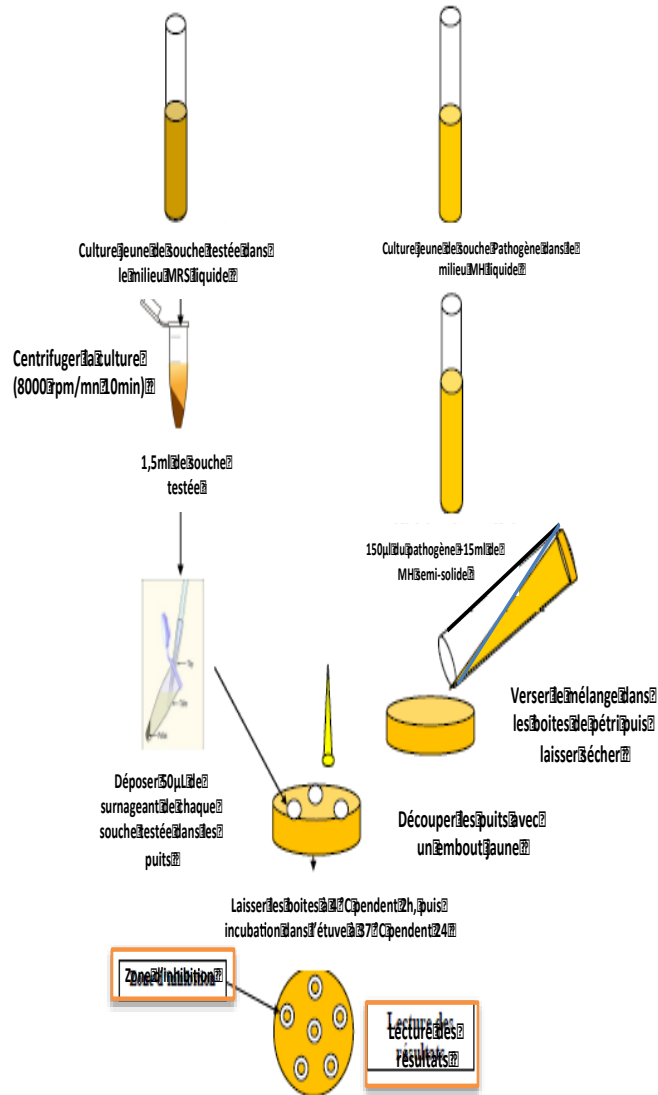
- ✓ Surnageant neutralisé à pH 7 par une solution de NaOH 0,1N.
- ✓ Surnageant non neutralisé.

Après 3h de diffusion au réfrigérateur à 4°C, des tubes stériles sont remplis par 15 ml de milieu MRS semi solide, dont nous avons ajouté 100 µl de la souche pathogène *candida albicans*, agité pendant 1min au vortex, ce mélange a été coulé sur la gélose solide dans chacune des boîtes pétrie, laisser solidifier pendant 15 min puis les incuber en anaérobiose à 37°C pendant 48h.

La lecture de l'activité bactériocinogénique se fait par la mesure du diamètre d'inhibition autour du puits, exprimée en mm (Allouche *et al.*, 2010). Une inhibition est considérée positive si le diamètre est supérieur à 2 mm (Thompson *et al.*, 1996) cité par (Doumandjiet *al.*, 2010). La mesure de la zone d'inhibition (Zi) est effectuée selon la formule suivante :

$$Zi (mm) = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (6mm)}$$

## Etude de l'antagoniste par la méthode de diffusion en puits ADT (Surnageants non neutralisés I)



## Etude de l'antagoniste par la méthode de diffusion en puits ADT (Surnageants neutralisé)

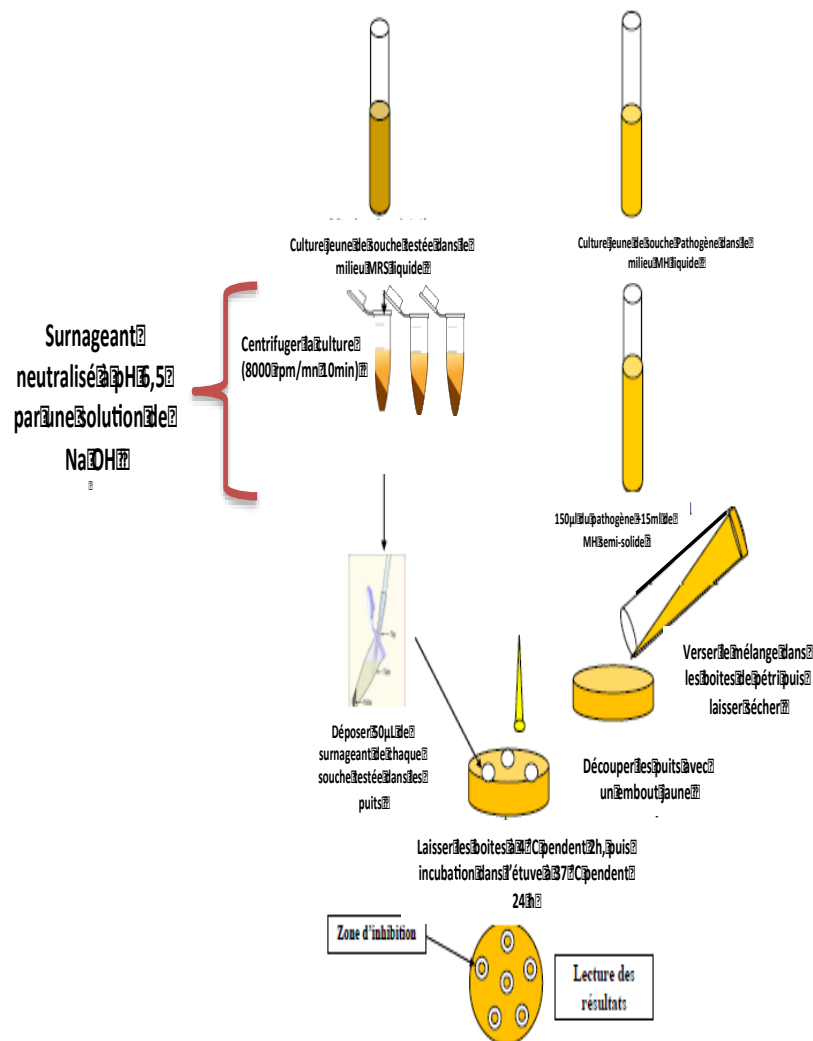


Figure 11 : protocole de la méthode des puits.

## I. Résultats

### I.1 Examen macroscopique

#### I.1.1 les souches lactiques

La souche *Lactobacillus rhamnosus* cultivée sur milieu MRS bouillon à 37°C pendant 48h, le milieu apparaît trouble, Fig.12 :



**Figure 12** : croissance de *Lb rhamnosus* sur MRS bouillon.

#### I.1.2 La souche pathogène

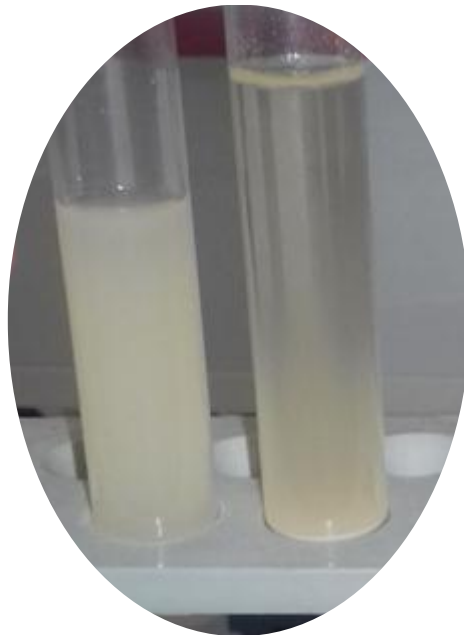
La souche *Candida albicans* cultivée sur milieu Sabouraud bouillon à 25°C pendant 48h, le milieu apparaît trouble contenant des petites molécules crèmes, Fig.13.



**Figure 13** : culture de *candida albicans* sur le bouillon de Sabouraud.

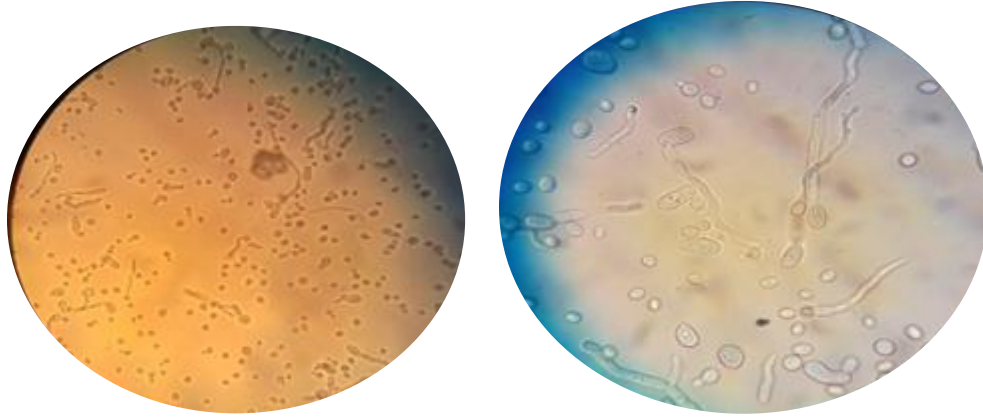
### I.1.3 La souche ultra levure

La souche *Ultra levure Saccharomyces boulardii\** cultivée sur le bouillon de Sabouraud à 37° pendant 24h, le milieu apparaît trouble blanchâtre, Fig. 14 :



**Figure 14** : culture de la souche *ultra levure* sur milieu Sabouraud bouillon.

## I.2 Examen microscopique



**Figure 15** : Aspect microscopique de *candida albicans* (G : 10x 100, 10 x 40).



**Figure 16** : Aspect microscopique de *candida albicans* (G : 10x 40) colorées par la fuschine.

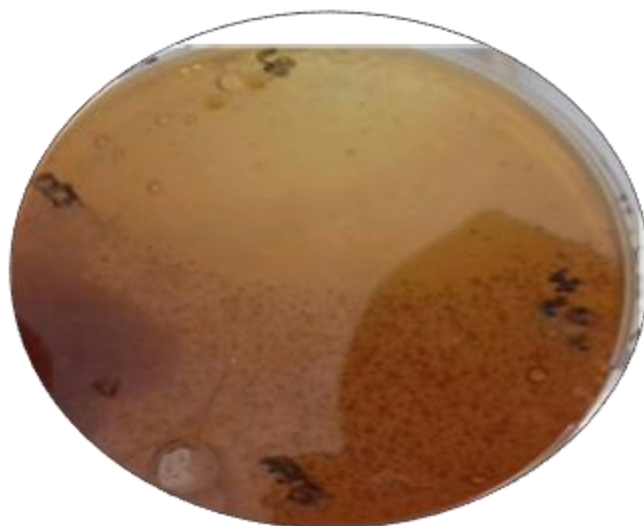
**Observation :** *Candida albicans* apparaît sous sa forme levure. La cellule bourgeonne développe une cellule fille. Les deux cellules se séparent. La levure a une structure ronde à ovale de 4 à 8  $\mu\text{m}$ .

### I.3 Recherche d'antagoniste :

#### I.3.1 Méthode des puits ADT (Agar Well Diffusion Test)

Dans un premier temps de notre étude on a réalisé l'étude d'antagonisme pour la souche *Lb Rhamnosus* vis-à-vis *Candida albicans*.

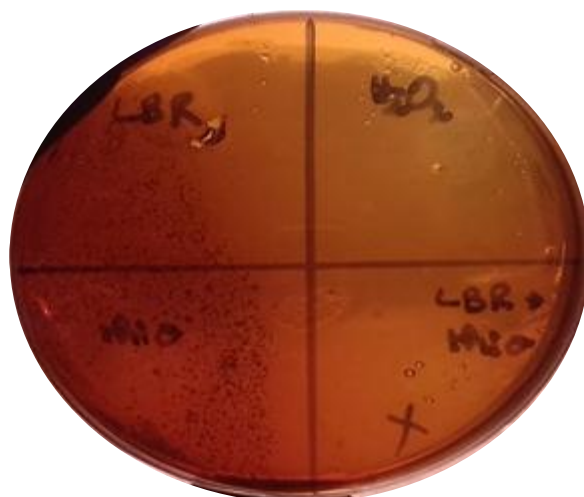
Ces résultats d'antagonismes de nos souches isolées sont dus principalement à la diminution du pH provoqué par la production de l'acide lactique (Dridier. D et al., 2006). Comme le montre la Fig.15 notre souche ***Lb Rhamnosus*** a démontré un effet inhibiteur représenté par une zone d'inhibition de 20 mm vis-à-vis sur la souche pathogène *Candida albicans*.



**Figure 17 :** Effet antagoniste de *Lb Rhamnosus* vis-à-vis *candida albicans* selon la méthode des puits.

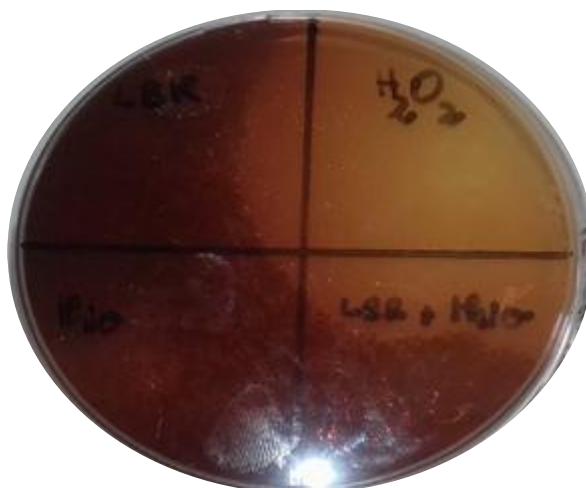
Dans un deuxième temps de notre étude et afin de mieux connaître la nature de la substance inhibitrice et de la comparé avec le peroxyde de l'hydrogène qui est considéré comme un antiseptique, le surnageant neutralisé et non neutralisé de la culture de *Lb Rhamnosus* et le Thiosulfate de sodium est considéré comme un potentialisateur de l'effet inhibiteur de bactéries lactiques.

Il a été démontré que l'utilisation de Thiosulfate de sodium en association avec une souche de *Lb rhamnosus* est bénéfique dans le traitement d'infections urogénitales telles que les vaginoses, les candidoses et les infections urinaires. (Nilvoliez A, 2014), Cela est conforté par nos résultats obtenus illustré sur la figure 18, avec des zones d'inhibitions significatives (15 mm pour *Lb rhamnosus*, 10 mm pour le Thiosulfate et un plus de 20 mm sur l'effet jumelé entre (*Lb Rhamnosus* + Thiosulfate).



**Figure 18**\_: Effet antagoniste de *Lb rhamnosus* et le Thiosulfate de sodium, (*Lb rhamnosus* + le thiosulfate ) et du Peroxyde de l'hydrogène, vis-à-vis *Candida albicans* selon la méthode des puits.

Nous avons par la suite testé l'effet de peroxyde de l'hydrogène vis-à-vis l'agent pathogène *Candida albicans*, Le Peroxyde d'hydrogène est considéré comme un très fort potentiel inhibiteur vis-à-vis *Candida albicans*. Le résultat obtenu représenté par la Fig.19 démontre clairement cette forte zone d'inhibition de 30 mm.



**Figure 19** : Effet antagoniste de peroxyde de l'hydrogène, vis-à-vis *Candida albicans* selon la méthode ADT.

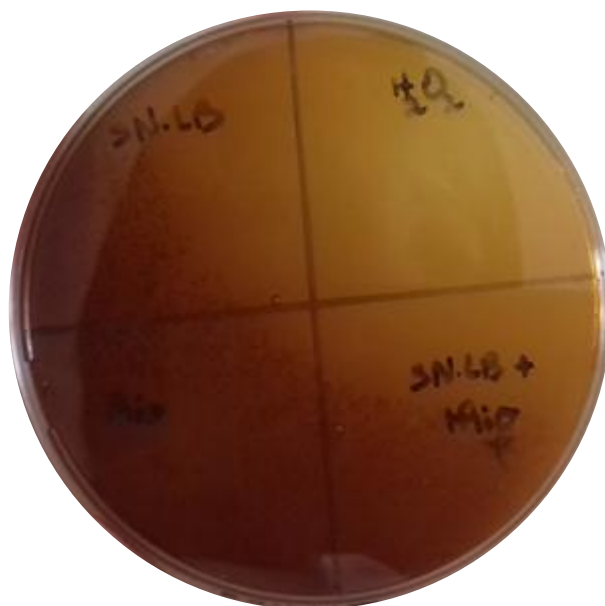
### **I.3.2 Méthode des puits ADT (Agar Well Diffusion Test) (Surnageant non neutralisé)**

Dans cette partie de notre étude les surnageant de *Lb rhamnosus* a été testé pour son activité antagoniste vis-à-vis *Candida albicans* Comme le montre la figure 21.

Selon les résultats obtenus, la méthode de mise en évidence d'activité antagoniste exercé par *Lb Rhamnosus*, dévoilent des résultats positifs de surnageant non neutralisés sont identiques aux résultats obtenues d'antagonismes de *Lb Rhamnosus* (culot + surnageant), diminution du pH provoqué par la production de l'acide lactique sécrété (surnageant) (Drider. D et al., 2006).

Dans un deuxième temps de notre étude et afin de mieux connaître la nature de la substance inhibitrice nous avons neutralisé notre surnageant pour éliminer l'effet de l'acide lactique. Nos résultats se rapprochent de plusieurs études ce qui montrent que les fractions bactériennes cellulaires n'ont aucun effet sur la croissance des souches cibles, par contre les fractions extracellulaires contiennent des substances responsables de cette interaction (Achemchem et Abrini, 1997 ; Labioui et al., 2005).

Il est important aussi de noter que l'absence d'inhibition dans les surnageant n'exclue pas le fait qu'il existe des substances antibactériennes (Ammors et al., 2006).



**Figure 20** : Effet de surnageant non neutralisé de *Lb rhamnosus* sur *Candida albicans* selon la méthode des puits.

Les travaux réalisés par (Mobarez *et al.*, 2008) sur l'effet antimicrobien des bactériocines produites par six souches de *Lactobacillus acidophilus* isolées par la technique ADT vis-à-vis de *staphylococcus aureus* révèle des diamètres de zone d'inhibition compris entre 13 et 20 mm.

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet antagoniste des bactéries lactiques (Ali *et al.*, 2007 ; Kacem *et al.*, Simon *et al.*, 2002 ; Rajaram *et al.*, 2010), lorsque ces dernières jouent un rôle essentiel dans l'inhibition de certaines bactéries, parmi celle-ci sont pathogènes et nuisibles (Drouault et Corthier, 2001).

Plusieurs bactéries lactique sont capables d'inhiber le développement de certaines bactéries à gram positif telle que certaines espèces pathogène, par sécrétion des composés antimicrobiens comportant des peptides et des protéines, qui sont appelé les bactériocines (Simon *et al.*, 2010). L'effet antibactérien peut varier selon la souche et selon les conditions de cultures (Bazo, 2011).

Song et Richard, (1997) ont montré chez *Listeria*, bactéries à Gram+, que les cellules résistantes aux bactériocines ont une membrane de composition différente de celle des cellules sensibles.

Certaines *Lactobacilles* jouent un rôle protecteur par sa production des composés comme peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) acide lactique et les bactériocines qui inhibent la croissance potentielle des pathogènes (Liliana *et al.*,2008).

A l'issue du présent travail nous avons constaté que l'allure de l'activité antagoniste de notre souche *Lb rhamnosus* testées vis-à-vis de *Candida albicans* pathogènes, diffère selon la souche considérée.

## **Conclusion**

Le présent travail permis de la mise en évidence *in vitro* de l'activité antagoniste de la souche lactique : *Lactobacillus rhamnosus* vis-à-vis la souche pathogène : *Candida albicans*.

Les résultats présentés dans ce travail permettent de fournir un ordre d'idée plus clair sur le potentiel antimicrobien de *Lactobacillus* qui représente une voie d'avenir pour la production des substances antimicrobiennes utilisées dans la thérapeutique des infections urogénitales.

Le principe de l'utilisation des probiotiques dans les pathologies urogénitales semble cependant attractif avec de solides bases scientifiques et une stratégie cohérente puisqu'il s'agit de remplacer une flore déficiente par la même espèce bactérienne la composant, administrée par voie locale ou orale et exerçant son action par la production d'acides, de peroxyde d'hydrogène, de bactériocines ou en modulant les réponses inflammatoires et immunitaires de la muqueuse.



## A

- **Achemchem F. et Abrini J., 1997.** Production de bactériocines par des bactéries lactiques à partir du jben de chèvre du Nord du Maroc. *Journal of Applied Microbiology*, 70 : pp 660-669.
- **Agbo-Godeau S., Guedj A. (2005).** Mycoses buccales. EMC-Stomatologie 1:30-41. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (A.F.S.S.A.P.S). (2008).
- **Allouche F.N., Hellal A., Laraba A., 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Revue Nature et Technologie*. N° 03 : pp 13 -20
- **Anane S, Kaouech E, Zouari B, Belhadj S, Kallel K, Chaker E.** les candidoses vulvo-vaginales: facteurs de risques et particularités cliniques et mycolodiques. *Journal de Mycologie médicale*. 2010, Vol. 20(1), 36-41.
- **Andreas U et Gerber. (2003).** Infections simples des voies urinaires : diagnostoc, traitement et prophylaxie. Forum Med Suisse, N°11. Antimicrobial peptides: from Genes to Applications. Springer Verlag. Stellenbosch, South Africa. Pp 391-421.
- **Ammor S., Tauveron G., Dufor E. et Chevalier I., 2006.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. 17: 454-461
- **Amouri I, Abbes S, Sellami H, Makni F, Sellami A, Ayadi A.** la candidose vulvo-vaginale: revue. *Journal de mycologie médicale*. 2010, vol. 20(2), 108-15.
- **Askienazy-Elbhar M.** Infection du tractus génital masculin : le point de vue du bactériologiste. *Gynécologie Obstétrique Fertil* 2005;33(9):691-7.

**B**

- **Barrons R, Tassone D.** Use of Lactobacillus probiotics for bacterial genitourinary infections in women: *A review. Clin Ther.* **2008**; 30(3):453-68.
- **Belin N, Bontemps F.** Les infections urinaires. *Le moniteur des pharmaciens.* **2012**;116.
- **Bébéar C, Bébéar CM.** Chapitre 39 - Mycoplasmes. In: **Denis F, Ploy M-C, Martin C, Bingen É, Quentin R,** éditeurs. *Bactériologie Médicale* (2e édition largement revue et actualisée) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; **2011** [cité 26 nov 2015]. p. 537-44. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294096686000391>
- **Bent S., Nallamotheu B., simel D., Fihn S., Saint S. (2002).** Does this woman have an acute uncomplicated urinary infection? *JAMA*, 287:2701-10.
- **Bergogne-Bérézin E.** Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. *Antibiotiques.* **2007**;9(2):139-44.
- **Bodnar LM, Krohn MA, Simhan HN.** Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *The Journal of Nutrition.* **2009**, Vol. 139(6), 1157-61.
- **Bohbot JM, Sednaoui P, Verriere F, Achhammer I.** the etiology diversity of vaginitis. *Gynécologie obstétrique et Fertilité.* **2011**.
- **Bohbot J-M, Lepargneur J-P.** La vaginose en 2011 : encore beaucoup d'interrogations. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* **2012**;40(1):31-6.
- **Botto H., (2003).** Infections urinaires nosocomiales de l'adulte : conférence de consensus 2002. *Médecine et maladies infectieuses.* 33 : 223s-244s.
- **Bradshaw CS, Pirotta M, De Guingand D, Hocking JS, Morton AN, Garland SM, Fehler G, Morrow A, Walker S, Vodstrcil LA, Fairley CK.** Efficacy of oral metronidazole with vaginal clindamycin or vaginal probiotic for bacterial vaginosis: randomized placebo-controlled double-blind trial. *Plos One.* **2012**, Vol. 7(4), e34540.
- **Brevets, NIVOLIEZ Andrien.** Utilisation de thiosulfate pour potentialiser l'effet anti-pathogène des lactobacilles, 16-01-2014.

## *e*

- **Canler J-P., 2005.** Dysfonctionnements biologiques des stations d'épuration : Origines et solutions. *Groupe Gis-Biostep. Doc & Tech. FNDAE n°33 : pp 100-104.*
- **Cox E. (1998).** Nosocomial urinary tract infections urology. 32: 210-5.
- **Crutchet A (2016).** Intérêt de l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale. Pdf : sciences pharmaceutiques. France : Université de Bordeaux U.F.R, 112p.

## *D*

- **De Champs C, Maroncle N, Balestrino D, Rich C, Forestier C.** Persistence of colonization of intestinal mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* Lcr35, after oral consumption. *J Clin Microbiol.* **2003**; 41(3):1270-3.
- **De Man J.D, Rogosa M, & Sharpe M.E., 1960.** A medium for the cultivation of *Lactobacilli*.
- **Denis F, Poly MC, Martin C, Bingen E, Quentin R.** Bactériologie médicale. Elsevier Masson, **2007**.
- **Denis F, Ploy M-C, Martin C, Bingen É, Quentin R,** éditeurs. Chapitre 34 - Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies. In: Bactériologie Médicale (2e édition largement revue et actualisée) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; **2011** [cité 26 nov 2015]. p. 331-427. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294096686000342>
- **Develoux M, Bretagne S.** Candidoses et levures diverses. EMC Maladies infectieuses **2005** ; 2 : 119-39.
- **Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte.** *Médecine Mal Infect.* **2008**;38, Supplement 3:S203-52.
-

- **Donders GGG.** Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* **2007**;21(3):355-73.
- **Donders GG, Berger J, Heuninckx H, Bellen G, Cornelis A.** vaginal flora changes on Pap smears after insertion of levonorgestrel-releasing intrauterine device. *Contraception.* **2011**, Vol. 83(4), 352-6.
- **Drai J, Bessede T, Patard J-J.** Prise en charge des pyélonéphrites aiguës. *Prog En Urol.* **2012**;22(14):871-5.
- **Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., Mc Mullen, L.M., Prevost, H., 2006.** The continuing story of class IIa bacteriocin. *Microbiology; Molecular & Biology Review.* 70 (2): pp 564-582.
- **DUNNE W. M.:** Laboratory diagnosis of ITU in children. *Clin. Microbiol. Newsl.*, **1995.** 17 (10), 73-80.

## 7

- **Foxman B. (2002).** Epidemiology of urinary tract infection: incidence, morbidity and economic costs. *American Journal of Medicine.* 113: 5S-13S.
- **Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillepsie B, Sobel JD. (2000).** Self-reported incidence of urinary tract infection and associated costs, *Ann Epidemiol*, Vol. 10, pp, 503-515.
- **Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S.** Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J Antimicrob Chemother.* **2006**;58(2):266-72.

## 9

- **Gordon JI, Klaenhammer TR.** A rendezvous with our microbes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2011**;108 (Suppl 1):4513-5.
- **Gibson GR, Roberfroid MB.** Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J Nutr.* **1995**;125(6):1401-12.

7

- **Iaconelli C, Lemetais G, Kechaou N, Chain F, Bermúdez-Humarán LG, Langella P, et al.** Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities. *J Biotechnol.* **2015**;214:17-26.

8

- **Johnson J. L., Phelips C. F., Cummins C. S., London J et Gasser F., 1980.** Taxonomy of *Lactobacillus acidophilus* group, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 30: pp. 53-68.

8

- **Kihal M., 1996.** Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, élément d'application en technologie fromagère type fromage bleu. *Thèse de Doctorat d'état.univesité d'Es-Senia (Oran).*
- **Klatt TE, Cole DC, Eastwood DC, Barnabei VM.** Factors associated with recurrent bacterial vaginosis. *The Journal of Reproductive Medecine.* **2010**, Vol. 55(1-2), 55-61.
- **Klebanoff MA, Nansel TR, Brotman RM, Zhang J, Yu KF, Schwebke JR, Andrews WW.** Personal hygienic behaviors and bacterial vaginosis. *Sexually transmitteed diseases.* **2010**, vol. 37(2), 94-9.
- **Klemmer PJ, Mattern WD.** 135 - Infection du tractus urinaire. In: Runge MS, Greganti MA, éditeurs. *Médecine interne de Netter (Second edition).* Paris: Elsevier Masson; **2011.** p. 1036-43.
- **Klemmer PJ, Mattern WD.** 135 - Infection du tractus urinaire. In: Runge MS, Greganti MA, éditeurs. *Médecine interne de Netter (Second edition).* Paris: Elsevier Masson; **2011.** p. 1036-43.

9

- **Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M., 2005.** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm.* Bordeaux. **144** : 237-250.

- **Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Romero R.** the vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *An international journal of obstetrics and gynaecology.* **2011**, Vol. 118 (5), 533-49.
- **Lecomte F., 1999.** Les infections urinaires de la femme. John Libbey Eurotext; 198 p.
- **Lecomte F.** Les infections urinaires de la femme. John Libbey Eurotext; **1999.** 198 p.
- **Lentilhac JP. (2002).** Responsabilités médicales et infections nosocomiales. *Hygiène*, 6 :8-471.
- **Little P., (2010).** Presentation pattern and natural course of severe symptoms and role of antibiotics and antibiotics resistance among patients presenting with suspected.
- **Livengood CH.** Bacterial Vaginosis: An Overview for **2009.** *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(1):28-37.
- **Lobel B, Soussy C.** Les infections urinaires. Springer Science & Business Media; **2007.**242 p.



- **Machado A, Salgueiro D, Harwich M, Jefferson KK, Cerca N.** Quantitative analysis of initial adhesion of bacterial vaginosis-associated anaerobes to ME-180 cells. *Anaerobe.* **2013**; 23:1-4.
- **Marieb Elaine N., 2005.** Anatomie et physiologie humaine 3e Ed. Quebec : ERPI, 1288 p.
- **Martin DH.** The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci.* **2012**;343 (1):2-9.
- **Martinez RCR, Franceschini SA, Patta MC, Quintana SM, Candido RC, Ferreira JC, et al.** Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14. *Lett Appl Microbiol.* **2009**;48(3):269-74.
- **Mohseni M-J, Aryan Z, Emamzadeh-Fard S, , et al.** Combination of probiotics and antibiotics in the prevention of recurrent urinary tract infection in children. *Iran J Pediatr.* **2013**;23(4):430-8.

## *N*

- **Nansel TR, Riggs MA, Yu KF, Andrews WW, Schwebke JR, Klebanoff MA.** The association of psychosocial stress and bacterial vaginosis in a longitudinal cohort. *American journal of Obstetrics and Gynecology.* **2006**, Vol. 194(2), 381-6.
- **Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL.** Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* **1991**;29(2):297-301.

## *O*

- **Oduyebo OO, Anorlu RI, Ogunsola FT.** the effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women. *The Cochrane Collaboration.* **2009**, 3.
- **O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA.** In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect Dis.* **2011**;11(1):200.
- **Ohmit SE, Sobel JD, Schuman P, Duerr A, Mayer K, Rompalo A, et al.** Longitudinal Study of Mucosal Candida Species Colonization and Candidiasis among Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Seropositive and At-Risk HIV-Seronegative Women. *J Infect Dis.* **2003**; 188(1):118-27. 76.

## *R*

- **Rajaram, S., Scott, R.L., Nash, H.A. (2005).** Retrograde signaling from the brain to the retina modulates the termination of the light response in *Drosophila.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102(49): 17840--17845.
- **Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al.** Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2011**;108 (Suppl 1):4680-7.
- **Reid G.** The Importance of Guidelines in the Development and Application of Probiotics. *Curr Pharm Des.* **2005**;11(1):11-6.

- **Reid G, Bruce AW.** Selection of Lactobacillus Strains for Urogenital Probiotic Applications. *J Infect Dis.* **2001**; 183(Supplement 1):S77-80.
- **Rousseau V, Lepargneur JP, Roques C, Remaud-simon M, Paul F.** prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal *lactobacilli* and pathogenic microorganisms. *Anaerobe.* **2005**, Vol. 11(3), 145-53.

## **S**

- **Simon, M.A., Xu, A., Ishikawa, H.O., Irvine, K.D. (2010).** Modulation of fat:dachsous binding by the cadherin domain kinase four-jointed. *Curr. Biol.* 20(9): 811--817.
- **Senok AC, Verstraelen H, Temmerman M, Botta GA.** Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis. *Cochrane Daatabase of systematics Reviews.* **2009**, Vol. 4, CD006289.
- **Smart S, Singal A, Mindel A.** Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. *Sexually transmitted infections.* **2004**, Vol. 80(1), 58-62.
- **Sobel DJ.** Management of reccurent vulvovaginal candidiasis : unresolved issues. *Current infectious diseases Reports.* **2006**, Vol. 8(6), 481-6.
- **Sophie Drouault, Gerard Corthier.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermenté sur la santé *Veterinary Research, BioMed Central,* **2001**, 32 (2), pp.101-117.
- **Špaček J, Buchta V, Jílek P, Förstl M.** Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **2007**;131(2):198–202.
- **Spear GT, French AL, Gilbert D, Zariffard MR, Mirmonsef P, Sullivan TH, et al.** Human  $\alpha$ -amylase Present in Lower-Genital-Tract Mucosal Fluid Processes Glycogen to Support Vaginal Colonization by Lactobacillus. *J Infect Dis.* **2014**;210 (7):1019-28.
- **Spurbeck RR, Arvidson CG.** Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiology.* **2011**, Vol. 6(5), 567-82.
- **Stapleton AE, Au-Yeung M, Hooton TM, et al.** Randomized, Placebo-Controlled Phase 2 Trial of a Lactobacillus crispatus Probiotic Given Intravaginally for Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* **2011**; 52(10):1212-7.

## 7

- **Thompson J K, Collins M A & Mercer W D. (1996).** Characterization of a proteinaceous antimicrobial produced by *Lactobacillus helveticus* CNRZ 450. *J. Appl. Bacteriol.*, **80**, 338-348.
- **Tortora G, Funke B, Case C (2003).** Introduction à la microbiologie : ERPI. pp. 608-613.
- **Turovskiy Y, Sutyak Noll K, Chikindas ML.** The aetiology of bacterial vaginosis. *Journal of Applied Microbiology*. 2011, vol. 110 (5), 1105-28.

## 20


- **Williams AB, Yu C, Tashima K, Burgess J, Danvers K.** Evaluation of two self-care treatments for prevention of vaginal candidiasis in women with HIV. *J Assoc Nurses AIDS Care JANAC*. **2001**;12(4):51-7.
- **Wilson JD, Lee RA, Balen AH, Rutherford AJ.** Bacterial baginal glora in relation to changing estrogen levels. *International journal of STD & AIDS*. **2007**, Vol. 18(5), 308-11.

## 3

- **Zhou X, Brotman RM, Gajer P, et al.** Recent Advances in Understanding the Microbiology of the Female Reproductive Tract and the Causes of Premature Birth, Recent Advances in Understanding the Microbiology of the Female Reproductive Tract and the Causes of Premature Birth. *Infect Dis Obstet Gynecol Infect Dis Obstet Gynecol*. **9 déc 2010;2010**, 2010:e737425.
- **Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, Foster JA, Forney LI.** Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *The ISME Journal*. **2007**, Vol. 1(2), 121-33.

## Les annexes

### Annexe 01 : Lecture de bandelette urinaire.



**Multistix® 10 SG**  
Reagent Strips  
for Urinalysis

**100 Strips**  
For *In Vitro* Diagnostic Use

Leukocytes  
Nitrite  
Urobilinogen  
Protein  
pH  
Blood  
Specific Gravity  
Ketone  
Bilirubin  
Glucose

2161  
Bayer Corporation, Elkhart, IN 46515 USA  
AG15515C Rev. 10/97 USA

EXP: 2009-12  
LOT: 8F06C

TESTS AND READING TIME		mg/dL URINE (1 mg = approx. 1 EU)					
<b>LEUKOCYTES</b>	NEGATIVE	TRACE		SMALL +	MODERATE ++	LARGE +++	
2 minutes							
<b>NITRITE</b>	NEGATIVE	POSITIVE (any degree of uniform pink color)					
60 seconds							
<b>UROBILINOGEN</b>	0.2 NORMAL	1	2	4	8		
60 seconds							
<b>PROTEIN</b>	NEGATIVE	TRACE	30 +	100 ++	300 +++	2000 or more ++++	
60 seconds							
<b>pH</b>	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
60 seconds							
<b>BLOOD</b>	NEGATIVE	NON-HEMOLYZED TRACE	MODERATE	HEMOLYZED TRACE	SMALL +	MODERATE ++	LARGE +++
60 seconds							
<b>SPECIFIC GRAVITY</b>	1.000	1.005	1.010	1.015	1.020	1.025	1.030
45 seconds							
<b>KETONE</b>	NEGATIVE	TRACE 5	SMALL 15	MODERATE 40	80	LARGE 160	
40 seconds							
<b>BILIRUBIN</b>	NEGATIVE			SMALL +	MODERATE ++	LARGE +++	
30 seconds							
<b>GLUCOSE</b>	NEGATIVE	1/10 (tr.) 100	1/4 250	1/2 500	1 1000	2 or more 2000 or more	
30 seconds							

**READ PRODUCT INSERT BEFORE USE. IMPORTANT:** Do not touch test areas. Store at temperatures between 15-30°C (59-86°F) and out of direct sunlight. Do not use product after expiration date. Do not remove desiccant. Remove only enough strips for immediate use. Replace cap immediately and tightly, intended for use in the U.S.A.

## **Annexes 2 : Composition des milieux de culture**

### **1. Milieu gélose MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960) (pH=6,5).**



Peptone.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande .....	10g
Glucose .....	20g
Tween 80 .....	1ml
Phosphate di-potassique KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate triammonique.....	2g
Sulfate magnésium sulfMgSO <sub>4</sub> .....	0.2g
Sulfate manganese MnSO <sub>4</sub> .....	0,05g
Agar-agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

**Milieu MRS bouillon :**



Les mêmes constituants de gélose MRS mais sans Agar-agar.

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

**Milieu MRS semi solide :**

Il se prépare avec les mêmes ingrédients de gélose MRS mais avec la moitié de quantité d'Agar-agar.

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

**2. Milieu Sabouraud gélose pH= 6**

Peptone .....	10g
Glucose .....	20g
Agar-agar .....	18g
Eau distillée .....	1000ml

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

**Milieu Sabouraud bouillon :**



Les mêmes constituants de gélose Sabouraud mais sans Agar-agar.

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

**Milieu Sabouraud semi solide :**

Il se prépare avec les mêmes ingrédients de gélose Sabouraud mais avec la moitié de quantité d'Agar-agar.

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes.

## Résumé

Notre étude concerne l'effet thérapeutique des probiotiques de *Lactobacillus rhamnosus* lors des infections urogénitales.

L'étude expérimentale faite au niveau de laboratoire de microbiologie basée sur le principe de la méthode des puits ADT, nous a montré que le genre *Lactobacillus rhamnosus* inhibent la croissance de la souche pathogène *Candida albicans* en présentant une zone d'inhibition compris entre 13 et 20 mm de diamètre.

Les résultats présentés dans ce travail permettent de fournir un ordre d'idée plus clair sur le potentiel antimicrobien de la souche *Lactobacillus rhamnosus* vis-à-vis l'agent responsable des infections urogénitales *Candida albicans*.

**Mots clés :** probiotique, *Candida albicans*, *Lactobacillus rhamnosus*, infections urogénitales.

## Abstract

Our study concerns the therapeutic effect of probiotics of *Lactobacillus rhamnosus* in urogenital infections.

The experimental study made at the microbiology laboratory based on the principle of the method of the wells ADT, showed us that the genus *Lactobacillus rhamnosus* inhibit the growth of the pathogenic strain *Candida albicans* by presenting an area of inhibition between 13 and 20 mm diameter.

The results presented in this work provide a clearer idea of the antimicrobial potential of the *Lactobacillus rhamnosus* strain against the agent responsible for urogenital infections *Candida albicans*.

**Keywords:** probiotics, *Candida albicans*, *Lactobacillus rhamnosus*, urogenital infections.