

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Santé



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Isolement de souches probiotiques du
microbiote vaginal**

Présenté par :

Abderrahmani Amel et Lanseur Thanina

Soutenue le : **25 juin 2023**

Devant le jury composé de :

Mme Bouaoud Yousra

Présidente

M.C.B

Mme Bendali Farida

Examinatrice

Professeur

Mme Ouarabi Liza

Encadreur

M.A.B

2022-2023

Remerciements

« Au terme de ce travail, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé le courage, la patience, la persévérance et la santé qui nous ont été nécessaires tout au long de notre parcours »

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre promotrice, Dr. OUARABI Liza, pour ses conseils, ses encouragements et son excellente supervision tout au long de la préparation de ce mémoire de Master.

Nous exprimons également toute notre gratitude envers les membres du jury, à savoir Dr. Bouaoud Yousra pour nous avoir fait l'honneur de présider notre soutenance et à Pr. Bendali Farida pour avoir aimablement accepté d'évaluer ce travail.

Nos sincères remerciements à tous les membres du Laboratoire de Microbiologie Appliquée qui nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Enfin, il nous est agréable d'adresser nos chaleureux remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation au sein de l'université de Bejaia et à tous ceux que je n'ai pas cités et qui nous ont pourtant aidés de près ou de loin à la réalisation de cette présente étude.

Dédicaces

À mes chers parents, mon frère Djalal et ma sœur Elina,

Vos encouragements, votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible ont été ma source de motivation et de détermination.

À mes précieux amis, Ryma, Imen, Lydia

Vos sourires, vos encouragements et votre amitié sincère m'ont donné la force de persévérer même lorsque les obstacles semblaient insurmontables.

À tous ceux qui ont été à mes côtés,

Je vous dédie ce mémoire, en témoignage de ma gratitude éternelle. Votre soutien inconditionnel a façonné mon parcours et m'a permis d'atteindre cet accomplissement. Que cette dédicace soit le reflet de ma reconnaissance infinie envers vous tous.

Avec tout mon amour et ma profonde gratitude,

Thanina

Dédicaces

De tout mon cœur, je dédie ce travail à :

Mes chers parents,

Qui ont été mon plus grand soutien, mes sources d'inspiration et mes guides .Votre amour inconditionnel, vos encouragements constants et votre dévouement ont été les fondations de ma réussite.

Mes frères Khiredine et Mouhened et ma sœur Ahlam,

Qui ont été mes complices, mes confidents et mes piliers dans les moments de doute. Votre amour et vos encouragements m'ont toujours donné la force nécessaire pour aller de l'avant.

Mes amis fidèles,

Qui m'ont soutenu tout au long de cette aventure. Vos encouragements, vos discussions stimulantes et votre présence chaleureuse ont rendu cette aventure encore plus significative.

Amel

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

C: Candida

CST: Community State Type

E: Escherichia

GN: Gélose nutritive

L: Lactobacillus

S: Saccharomyces

Sp: species

Spp: Subspecies

UFC: Unité Formant Colonie

VB : Vaginose Bactérienne

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

liste des figures

Figure 1. Anatomie de l'appareil reproducteur féminin.....	3
Figure 2. Mécanismes mis en jeu par les <i>lactobacilles</i> vaginaux pour inhiber les microorganismes pathogènes.	6
Figure 3. Mécanismes mis en jeu par les <i>lactobacilles</i> vaginaux pour inhiber les l'adhésion des microorganismes pathogènes au sein de la cavité vaginale.	8
Figure 4. Frottis vaginal coloration de Gram avec présence de <i>Candida</i>	12
Figure 5. Photographies optiques (grossissement x100) de l'aspect cellulaire des isolats fongiques après coloration au bleu de méthylène.	22
Figure 6. Photographie optique (grossissement ×40) pour la photo à gauche et (grossissement ×100) pour la photo à droite de l'aspect cellulaire des souches fongique après incubation 3 heures dans du sérum humain.	23
Figure 7. Activité hémolytique des souches de <i>lactobacilles</i>	24
Figure 8. Activité antimicrobienne des souches lactiques à l'égard d' <i>Escherichia coli</i> sur la boîte à gauche et <i>Staphylococcus aureus</i> sur la boîte à droite.	25
Figure 9. Résultats de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles vaginaux à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> et d' <i>Escherichiacoli</i> par le test des spots.	25
Figure 10. Résultats de l'activité antimicrobienne des souches de <i>lactobacilles</i> vaginaux à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> et d' <i>Escherichia coli</i> par le test des puits.....	27

Liste des tableaux

Tableau I. Cinq principales CST identifiées dans le microbiote vaginal	5
Tableau II. Quelques exemples de bactériocine produite par les <i>lactobacilles</i>	7
Tableau III. Illustre Variations de l'environnement vaginal de la pré-puberté à la ménopause	10
Tableau IV. Les espèces des bactéries utilisées comme probiotique pour le microbiote vaginal.....	15
Tableau V. Milieux utilisés lors de l'isolement	18
Tableau VI. Milieux utilisés pour l'isolement des souches lactique et fongique	21
Tableau VII. Nombre de souches obtenues pour chaque espèce de <i>lactobacille</i>	22

Sommaire

Introduction.....	1
1. L'appareil génital féminin et son microbiote.....	3
1.1. Rappel anatomique	3
1.2. Le microbiote vaginal	4
1.3. Rôle protecteur de microbiote vaginal.....	5
1.3.1. Production d'acide lactique	6
1.3.3. Production de bactériocines.....	7
1.3.4. Inhibition de l'adhésion des pathogènes	8
1.4. Evolution chronologique du microbiote vaginal	9
2. Le microbiote vaginal a l'état de dysbiose	11
2.1. La vaginose bactérienne.....	11
2.2. Vulvo- vaginite candidosique.....	11
2.3. La vaginite aérobie	12
2.4. Complication des infections vaginales	12
2.5. Voies thérapeutiques des infections vaginales	13
3. Les probiotiques.....	13
3.4. Principaux probiotiques utilisés pour le microbiote vaginal	15
3.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	15
3.4.2. Le genre <i>Saccharomyces</i>	16
1. Prélèvements vaginaux.....	18
1.1. Origine des prélèvements.....	18
1.2. Méthode de prélèvement.....	18
2. Isolement, purification et identification des souches	18
2.1. Isolement des Lactobacilles	18
2.2. Isolement des souches fongiques.....	19
3. Purification et identification phénotypique des souches.....	19
3.1. Identification des souches de <i>Lactobacilles</i>	19

3.2.	Identification des souches fongiques	19
4.	<i>Caractérisation des souches</i>	20
4.1.	Activité hémolytique :	20
4.2.	Tests d'activités antibactériennes	20
4.2.1.	Test des spots.....	20
4.2.2.	Test des puits	20
1.	<i>Isolement et identification présumptive des souches lactiques et fongiques</i>	21
1.1.	Caractérisation des souches lactiques	21
1.2.	Caractérisation des souches fongiques	22
2.	<i>Caractérisation des souches isolées</i>	23
2.1.	Activité hémolytique des souches isolées	23
2.2.	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches isolées.....	24
2.2.1.	Résultats du test des spots	24
2.2.2.	Résultats du test des puits.....	26
	<i>Conclusion</i>	27

Références bibliographiques

Liste des annexes

Introduction

Introduction

Introduction

Il est désormais admis que les différents compartiments composant le corps humain sont colonisés par des microorganismes qui cohabitent avec les cellules de l'hôte et qui sont adaptés aux conditions physiologiques de ces zones. Le terme « holobionte » est ainsi utilisé afin de décrire l'association du corps humain à ces différentes communautés microbiennes nommées « microbiotes » (**Poreau, 2013**).

Parmi ces microbiotes humains, un seul est spécifique au genre féminin. Il s'agit du microbiote vaginal qui est un micro-écosystème complexe, dynamique et fluctuant constamment tout au long de la vie d'une femme. Ces fluctuations sont dépendantes des niveaux d'œstrogène et jouent un rôle majeur dans la protection de la muqueuse vaginale et du maintien de l'équilibre physiologique de l'appareil reproducteur féminin (**Dumont et al., 2020**).

Généralement, ce sont différentes espèces de lactobacilles, anciennement appelées « flore de Doderlein » qui dominent le microbiote vaginal. Ces espèces jouent un rôle central dans le maintien d'un environnement vaginal sain en présentant des composés antimicrobiens tels que le peroxyde d'Hydrogène, l'acide lactique, des bactériocines et en adhérant à la paroi vaginale, ce qui permet de protéger contre les maladies sexuellement transmissibles et les infections causées par les microorganismes pathogènes en grande partie par le maintien d'un pH acide (**Chee et al., 2020**).

Le traitement des infections vaginales est actuellement un réel problème de santé publique. En effet, les infections vaginales dites basses évoluent souvent vers des infections hautes, provoquant ainsi des complications pouvant altérer la fonction de reproduction. Le traitement de prédilection reste l'antibiothérapie, cependant cette dernière est confrontée au problème d'antibiorésistance et de récurrence des infections. Il devient ainsi urgent de palier à ce problème en recherchant des solutions plus « naturelles ».

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a comme principaux objectifs :

- Dans un premier temps : L'objectif est d'isoler des souches de lactobacilles et d'analyser leur potentiel probiotique afin de choisir une ou plusieurs souches qui présentent des caractéristiques probiotiques prometteuses.

Introduction

- Dans un second volet : l'isolement de souches de levures dont l'optique de caractériser une souche de *Saccharomyces cerevisiae* à utiliser autant que probiotique vaginal.

Pour ce faire et afin de cerner le contexte de cette étude, une synthèse bibliographique relative au sujet est confectionnée donnant un aperçu sur le microbiote vaginal, les différentes infections vaginales et le rôle des lactobacilles au niveau de la muqueuse vaginale. Par la suite, la méthodologie adoptée dans cette étude sera détaillée, les résultats obtenus seront présentés et discutés en se référant à la littérature. Enfin, les conclusions auxquelles ils nous ont amenés seront exposées suivies de certaines perspectives.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

1. L'appareil génital féminin et son microbiote

1.1. Rappel anatomique

L'appareil reproducteur féminin comprend deux ovaires, deux trompes, l'utérus, le vagin, et les organes génitaux externes (vulve, clitoris, petites lèvres et grandes lèvres) (**Kamina, 1993**).

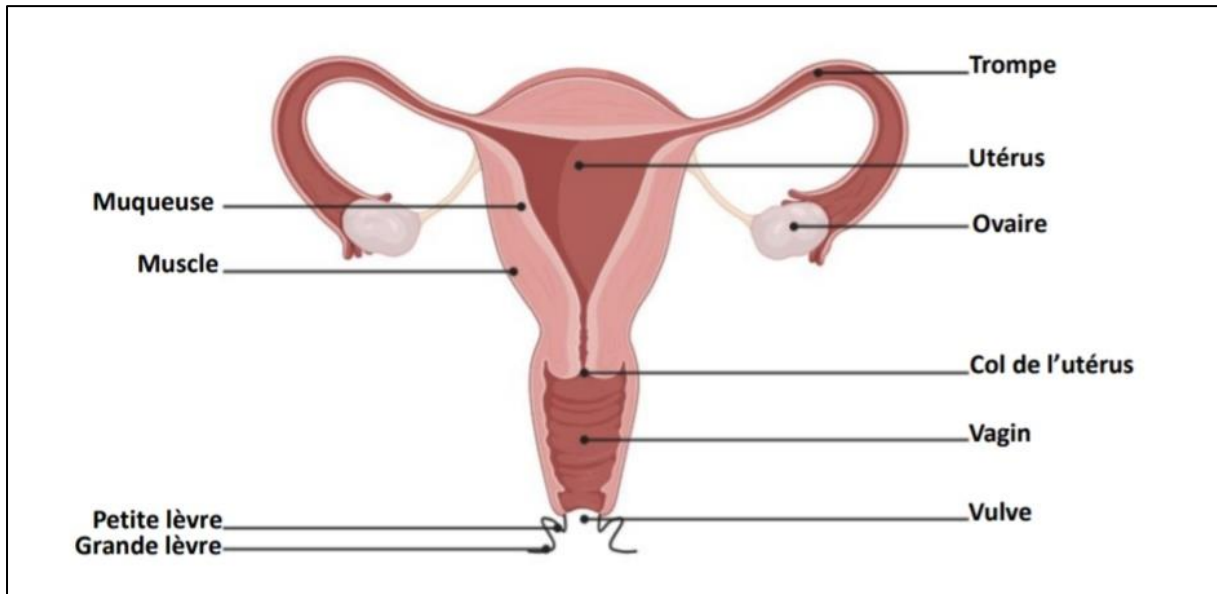


Figure 1. Anatomie de l'appareil reproducteur féminin (**Maximilien, 2019**)

Le vagin est une structure tubulaire fibromusculaire d'une longueur de 6 à 12 cm. Il s'étend de la vulve au col de l'utérus. Le fond du vagin est partiellement caché par les petites lèvres et sa partie postérieure se termine par un cul-de-sac dans lequel pénètre le col de l'utérus (**Kamina, 1993**).

La partie anatomique la plus importante pour le microbiote vaginal est l'épithélium vaginal, qui prolifère et s'épaissit en réponse aux œstrogènes. La transsudation vaginale est également contrôlée par les niveaux d'œstrogènes et se compose d'eau, de sels, de mucines, d'hydrates de carbone, d'immunoglobulines, de lysozyme et d'autres substances (**Kamina, 1993**).

Synthèse bibliographique

1.2. Le microbiote vaginal sain

Le microbiote vaginal est un assemblage complexe de microorganismes qui interagissent entre eux et avec les cellules de l'hôte. Il est connu pour évoluer tout au long de la vie d'une femme.

A l'état sain, le microbiote vaginal dominé par des espèces de Lactobacilles. Ils constituent un genre de bactérie commensal du tube digestif et des parties génitales qui produisent de l'acide lactique ce qui permet d'avoir un environnement acide avec un pH de $3,5 \pm 0,2$. Le microbiote vaginal sain est stable dans sa composition et est généralement asymptomatique (Miller et al., 2016).

Outre les lactobacilles, d'autres bactéries font partie de microbiote vaginal tels que : *Anaerococcus*, *Atopobium*, *Corynebacterium*, *Fingoldia*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Mobiluncus*, *Peptoniphilus*, *Prevotella*, *Sneathia* et *Streptococcus* (Ravel et al., 2011); (Huang et al., 2014)

Il est important de noter que la majorité de ces bactéries produisent de l'acide lactique, ce qui suggère que malgré la variation du microbiote vaginal la production de l'acide lactique est toujours conservée. Cependant certaines de ces bactéries peuvent présenter un certain niveau de pathogénicité et être associées à des infections opportunistes (Ravel et al., 2011).

Certaines levures du genre *Candida*, telle que *Candida albicans*, font partie du microbiote vaginal mais en espèces minoritaires. Une surcroissance de *Candida* peut entraîner des infections fongiques, telles que la candidose vaginale (Hall et Noverr, 2017).

Cependant il est important de noter que la composition de microbiote vaginal varie d'une femme à une autre. Pour mieux comprendre ces variations, la notion de Community State Type (CST) a été introduite. Il s'agit d'un système de classification utilisé pour catégoriser le microbiote vaginal en fonction des espèces bactériennes dominantes présentes (Ravel et al., 2011).

Il existe cinq principaux CST identifiés au sein du microbiote vaginal (Ravel et al., 2011), comme le montre le **Tableau I**.

Synthèse bibliographique

Tableau I. cinq principales CST identifiées dans le microbiote vaginal (Ravel et al., 2011)

<i>CST</i>	<i>Espèce dominante</i>	<i>Caractéristiques</i>
CSTI	<i>Lactobacillus crispatus</i>	le plus bénéfique est protecteur et est associée à un environnement vaginal sain.
CSTII	<i>Lactobacillus gasseri</i>	associé à un microbiote vaginal sain.
CSTIII	<i>Lactobacillus iners</i>	associé à des niveaux de pH légèrement plus élevés que les CST I et II.
CSTIV	bactéries anaérobies telles que <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Atopobium vaginae</i>	Généralement observée chez les femmes présentant des symptômes liés à la VB.
CSTV	Bactéries anaérobies stricts	Il est associé à une dysbiose et à un risque élevé d'infections vaginales.

1.3. Rôle protecteur de microbiote vaginal

Le microbiote vaginal à une influence direct sur la santé de la femme et son équilibre est essentiel pour le bon fonctionnement de l'appareil reproducteur féminin. L'implantation durable des microorganismes pathogènes dans l'environnement vaginal est limitée par les bactéries lactiques telles que *L.crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* et *L. jensenii* (Maximilien, 2019).

Elles jouent également un rôle crucial dans la fertilité en fournissant un environnement optimal pour les spermatozoïdes (Hanneke et al., 2015). Un microbiote vaginal sain contribue à maintenir une réponse immunitaire équilibrée et à favoriser une fonction immunitaire adéquate (Maximilien, 2019).

En outre, le microbiote vaginal pourrait avoir des effets sur la santé générale, au-delà de sa relation avec la santé reproductive. Plusieurs études observationnelles ont mis en évidence des associations entre des altérations du microbiote vaginal et certains problèmes de santé générale tels que l'obésité et la résistance à l'insuline qui sont des facteurs de risque pour le développement du diabète de type 2 (Goaziou, 2021). Les *lactobacilles* ont ainsi un pouvoir

Synthèse bibliographique

inhibiteur vis-à-vis de certains microorganismes pathogènes. Les principaux mécanismes mis en jeu sont décrits dans la figure 2. Nous en citons quelques-uns :

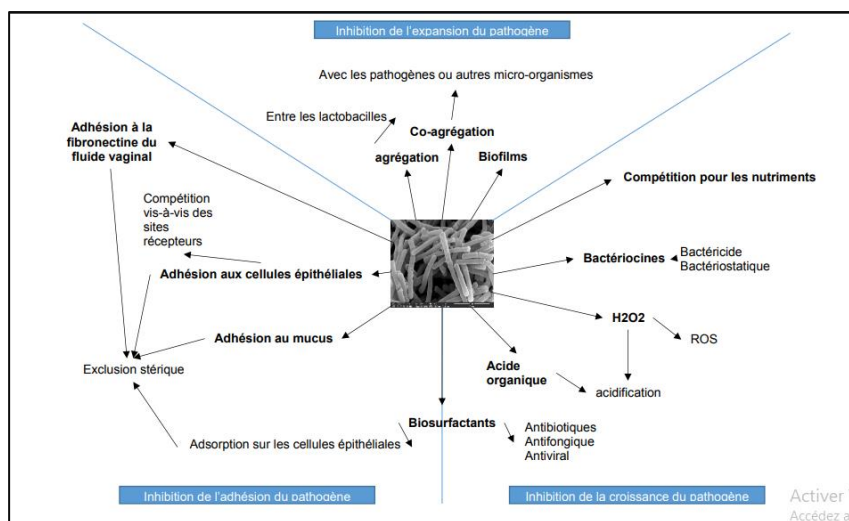


Figure 2. Mécanismes mis en jeu par les lactobacilles vaginaux pour inhiber les microorganismes pathogènes. (Maximilien, 2019).

1.3.1. Production d'acide lactique

Les *Lactobacilles* fermentent le glycogène présent dans la muqueuse vaginale en acide lactique (forme L et D) et en acide acétique (O'Hanlon et al., 2011).

La différence entre les deux formes, L-lactate et D-lactate, réside dans leur structure chimique. La forme L-lactate est l'énantiomère naturellement présent dans de nombreux processus métaboliques, alors que la forme D-lactate est un énantiomère moins courant, seuls *L. crispatus*, *L. gasseri* et *L. jensenii* possèdent une D-lactate déshydrogénase qui leur permet de synthétiser la forme (D) (Maximilien, 2019) ; (Hardy et al., 2017).

Certaines études indiquent que la présence de *Lactobacillus crispatus*, qui produit à la fois la forme L et D-lactate, est associée à un meilleur équilibre de la flore vaginale et à une protection accrue contre les infections vaginales, notamment les infections dues aux levures (Maximilien, 2019) ; (Hardy et al., 2017).

L'accumulation de ces acides réduit le pH vaginal inhibant ainsi la croissance de certains microorganismes pathogènes tels que *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Escherichia coli* et certains streptocoques anaérobies. Cependant, *Candida albicans* peut se multiplier dans un environnement acide et survivre à pH élevé supérieur à 8 (Grattepanche, 2022).

Synthèse bibliographique

1.3.2. Production de peroxyde d'hydrogène

Les *lactobacilles* présents dans le vagin ne possèdent pas le cytochrome-oxydase pour effectuer la phosphorylation oxydative, c'est-à-dire la conversion de l'oxygène(O₂) en eau (H₂O). Au lieu de cela, ils utilisent des flavoprotéines pour réaliser une oxydation terminale, ce qui entraîne la formation de peroxyde hydrogène (H₂O₂) à partir de l'Oxygène. La production de peroxyde d'Hydrogène à une action directe inhibitrice sur certaines bactéries, en particulier celles qui ne possèdent pas le système catalase-peroxydase. De plus, une action indirecte peut avoir lieu en formant des composés toxiques par association du peroxyde d'Hydrogène à des substances présentes dans le mucus vaginal, tels que des chlorures ou la myéloperoxydase. (Martin et Suárez, 2010).

1.3.3. Production de bactériocines

Les *lactobacilles* synthétisent des substances de nature protéique à potentiel antimicrobien appelées bactériocines. Elles fonctionnent en se fixant et en déstabilisant la membrane cytoplasmique en créant des pores dans la paroi, ce qui provoque la mort cellulaire de la bactérie. Leurs cibles principales sont *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Prevotella intermedia* et *Neisseria gonorrhoeae*. D'autres bactériocines agissent en inhibant des enzymes ou des processus métaboliques spécifiques à la cellule cibles, comme l'arginine (Maximilien, 2019).

Quelques exemples de bactériocine produite par les *lactobacilles* (Maximilien, 2019) , montré dans le **Tableau II**.

Tableau II. Quelques exemples de bactériocine produite par les *lactobacilles* (Maximilien, 2019).

bactériocine	Caractérisations et propriétés générales
La bactériocine L23	L23 produite par <i>lactobacillus fermentum</i> L23 présente une activité inhibitrice contre des pathogènes à Gram négatif et à Gram positif, ainsi que contre les <i>Candida spp.</i>
La fermentcine HV6b	produite par <i>lactobacillus fermentum</i> HV6b MTCC 10770 est un peptide antimicrobien qui inhibe la croissance de <i>G.vaginalis</i> , <i>mobiluncus</i> , certains <i>staphylocoques</i> et <i>streptocoques</i> .

Synthèse bibliographique

La lactocilline	produit par <i>L. gasseri</i> JV-VO3 présente une activité contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Corynebacterium aurimucosum</i> .
La crispacine A	produite par <i>Lactobacillus crispatus</i> JCM2009
L'helveticine-M	produite par <i>Lactobacillus crispatus</i> , qui présente une activité antimicrobienne contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Enterobacter cloacae</i> .

1.3.4. Inhibition de l'adhésion des pathogènes

Comme l'illustre la figure 4, plusieurs mécanismes sont mis en place par les *Lactobacilles* pour inhiber l'adhésion de certains microorganismes pathogènes.

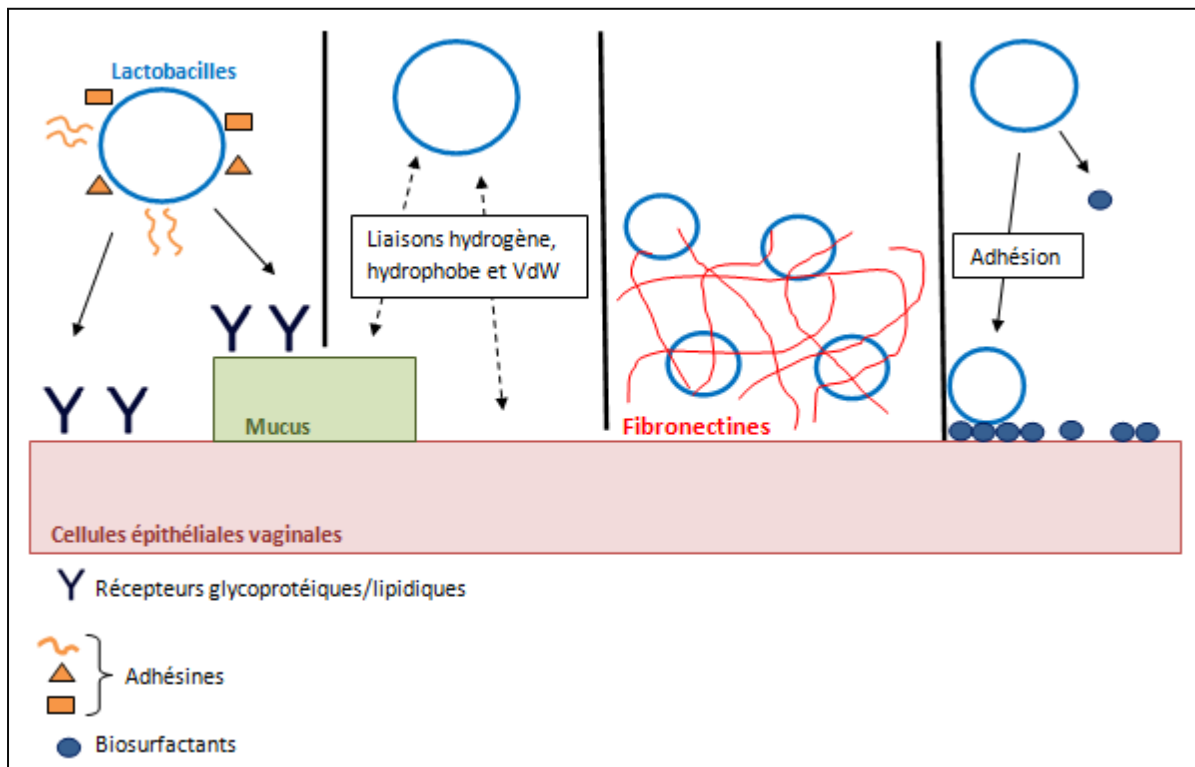


Figure 3. Mécanismes mis en jeu par les *Lactobacilles* vaginaux pour inhiber l'adhésion des microorganismes pathogènes au sein de la cavité vaginale (Grattepanche, 2022).

En se fixant sur l'épithélium vaginal, les *Lactobacilles* forment des biofilm qui agit comme une barrière contre les pathogènes en se fixant sur l'épithélium des cellules vaginales. Il existe deux types de mécanismes d'adhésion : l'adhésion spécifique par l'acide lipotéichoïque présent à la surface des *Lactobacilles* et l'adhérence non spécifique due à des

Synthèse bibliographique

différentes interactions physico-chimiques entre les *Lactobacilles* et les cellules épithéliales vaginales (Grattepanche, 2022).

En outre, la fibronectine est une molécule présente dans le liquide vaginal qui favorise l'adhésion de la flore endogène normale aux surfaces muqueuses. Les lactobacilles empêchant

Les agents pathogènes de s'y attacher. Plus le pH est acide, plus cette adhésion est forte (Grattepanche, 2022).

Les espèces du genre *Lactobacillus* produisent également des biosurfactants, plus particulièrement la sulactine, qui est un inhibiteur d'adhésion de certaines bactéries pathogènes comme *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Les biosurfactants empêchant les agents pathogènes d'adhérer à la muqueuse vaginale par la création d'une barrière (Grattepanche, 2022).

1.4. Evolution chronologique du microbiote vaginal

La composante du microbiote vaginale varie tout au long de la vie d'une femme. Ceci est impacté par les hormones sexuelles féminines, et en particulier les œstrogènes, comme en témoignent les grandes différences entre la période pré-pubère et post-ménopausique d'une part, et la période reproductive de l'autre (Miller et al., 2016).

Tableau III. Evolution de l'environnement vaginal de la pré-puberté à la ménopause (Maximilien, 2019).

Synthèse bibliographique

<i>Période</i>	<i>Caractéristiques</i>
Pré-pubère	<p>Dès la naissance, la flore vaginale évolue rapidement, sous l'influence de facteurs externes tels que le mode d'accouchement (voie basse ou césarienne), l'alimentation (allaitement ou non), contacte avec l'environnement, ainsi que des facteurs internes tels que l'imprégnation hormonale. Cela conduit à la colonisation du tractus vaginal par des bactéries d'origine fécale et cutanée (<i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus</i>), contribuant à la formation de la flore vaginale initiale de l'enfant. (Bergogne-Bérézin, 2007).</p> <p>Pendant le premier mois et durant l'enfance, les œstrogènes transmis par la mère persistent dans le corps de l'enfant. Cette persistance hormonale est étroitement liée à la production de glycogène au niveau vaginal, ce qui explique un quasi exclusif de lactobacilles dans la flore microbienne, et un pH vaginal élevé (Grattepanche, 2022).</p>
A la puberté	<p>Au début de la phase d'imprégnation hormonale, la sécrétion ostrogénique s'accompagne d'une colonisation progressive du vagin par une flore bactérienne constituée principalement de lactobacilles et des bactéries anaérobies, similaire à celle présente chez la femme adulte. La synthèse de glycogène stimulée par la sécrétion d'œstrogène devient un substrat préférentiel pour les lactobacilles. Les espèces les plus actives utilisant ce glycogène sont <i>L. crispatus</i> et <i>L. jensenii</i> (Bergogne-Bérézin, 2007).</p> <p>Une production croissante d'œstrogènes par les ovaires augmente l'épaisseur des muqueuses et réenclenche le cycle d'imprégnation glycogénique, alors la flore est de nouveau dominée par les lactobacilles pour cela le pH devient acide (Muhleisen et Herbst-Kralovetz, 2016).</p>
À cours du cycle menstruel	<p>Chaque femme est singulière, et il peut y avoir des différences individuelles dans l'évolution du microbiote pendant le cycle menstruel. D'autres éléments tels que les méthodes d'hygiènes, les rapports sexuels,</p>

Synthèse bibliographique

	l'utilisation de méthodes contraceptives ou d'antibiotiques peuvent également impacter la composition du microbiote vaginal (Bergogne-Bérézin, 2007). La période du cycle menstruelle est la plus sujette aux infections vaginales, à cause de ces facteurs qui vont limiter la croissance des lactobacilles au niveau vaginal ce qui engendre un certain polymorphisme bactérien. (Grattepanche, 2022)
A la ménopause	A la ménopause, il se produit des altérations au niveau du microbiote vaginal en raison de la baisse des taux d'œstrogènes. Ceci peut entraîner une réduction de taux des lactobacilles et favoriser la prolifération de micro-organismes nocifs (Racine et al., 2020)

2. Le microbiote vaginal a l'état de dysbiose

Le microbiote vaginal peut être sujet à la dysbiose en raison de nombreux facteurs tels que l'utilisation incontrôlée d'antibiotiques, les menstruations, les douches vaginales, les rapports sexuels, l'utilisation des tampons et les anomalies endocriniennes. Ces derniers peuvent engendrer des changements temporels ou permanents (**Boumediene, 2018**). Plusieurs infections peuvent être engendrées par la dysbiose nous en citons :

2.1. La vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est l'une des formes les plus fréquentes de dysbiose vaginale et trouble souvent l'équilibre entre les communautés microbiennes bactériennes vaginales (**Li et al., 2019**).

Elle résulte du remplacement des lactobacilles par une flore polymicrobienne comprenant : *Gardenerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus spp* (**Grattepanche, 2022**). Certaines patientes peuvent être asymptomatiques, mais les manifestations cliniques chez d'autres incluent souvent des démangeaisons vaginales, une augmentation des sécrétions vaginales avec changement d'odeur et de couleur (**Li et al., 2019**).

2.2. Vulvo- vaginite candidosique

La candidose vulvo-vaginite ou mycose vaginale est une infection causée par la prolifération d'une levure du genre *Candida* qui regroupe plusieurs espèces dont *C. albicans*,

Synthèse bibliographique

C. glabrata, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*. Environ 70 % à 75 % des femmes développent une candidose vaginale au cours de leur vie. Les facteurs de risque liés au développement d'une candidose vaginale sont notamment le diabète et l'utilisation abusive d'antibiotiques (**Grattepanche, 2022**). Cette infection se manifeste par (**Paul et al., 1996**) :

- Des démangeaisons ou des sensations de brûlures vaginales
- Des rougeurs ou une enflure de la vulve
- Un écoulement blanc épais du vagin
- Une sensation de brûlure durant la miction
- Des rapports sexuels douloureux

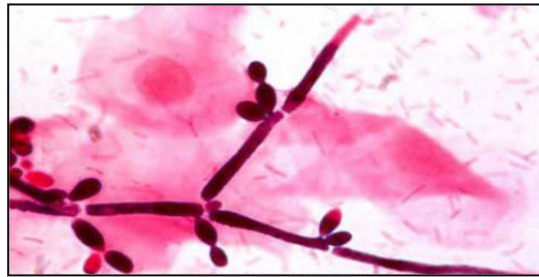


Figure 4. Frottis vaginal coloration de Gram avec présence de *Candida* (**Grattepanche, 2022**).

2.3. La vaginite aérobie

Dans la vaginite aérobie, les lactobacilles présents dans le vagin sont remplacés par des organismes aérobies tels que des commensaux entériques ou des pathogènes (**Sandra et al., 2013**). On trouve beaucoup plus les streptocoques du groupe B, les entérobactéries, et *Staphylococcus aureus* (**Donders et al., 2002**), qui entraînent une perturbation de l'équilibre du microbiote vaginal (**Sandra et al., 2013**) ; (**Di Paola et al., 2017**).

La vaginite aérobie peut provoquer des symptômes tels que des pertes vaginales anormales, une odeur désagréable, des démangeaisons, des brûlures et des irritations (**Sandra et al., 2013**).

2.4. Complication des infections vaginales

Les cas de vaginose bactériennes peuvent évoluer vers des complications gynécologiques telles que les naissances prématurées, l'avortement et l'endométrite. Cette évolution est

Synthèse bibliographique

favorisée par un nombre élevé de partenaires sexuels et certaines pratiques d'hygiène telle que la douche vaginale (**Dumont et al., 2020**).

Ces infections ouvrent ainsi la porte aux maladies transmises sexuellement telles que le VIH et le cancer du col de l'utérus (**Cohen CR et al., 2012**).

En cas de grossesse, ces complications d'infection non traitées sont en faveur de la prématurité, du faible poids à la naissance, des infections néonatales et des infections de l'utérus après l'accouchement (**Grattepanche, 2022**).

2.5. Voies thérapeutiques des infections vaginales

Le traitement des infections vaginal est devenu un réel problème de santé publique. La voie antibiotique reste la voie de prédilection pour le traitement de ces infections. Les infections bactériennes vaginales telles que la vaginose bactérienne peuvent être traitées avec certains antibiotiques tels que le métronidazole et la clindamycine. Ces médicaments peuvent être pris par voie orale ou sous forme de gels ou de crèmes pour une application locale à l'intérieur du vagin (**Sobel et Sobel, 2015**).

Les infections vaginales fongiques, telles que le muguet vaginal, sont généralement traitées avec des antifongiques, tels que le clotrimazole, le miconazole ou le fluconazole. Ces médicaments se présentent sous forme de crèmes, de suppositoires ou de comprimés vaginaux (**Maximilien, 2019**).

Cependant une approche de traitement plus « naturel » pourrait être envisagée pour la vaginose et les vaginites banales ou au minimum pour restaurer l'écosystème vaginal après un traitement classique. Ceci est particulièrement due aux problèmes d'antibiorésistance, de récurrence et de formation de biofilms par les pathogènes vaginaux ce qui rend le traitement des infections plus ardu.

3. Les probiotiques

Le corps humain et l'ensemble de ses microbiotes entretiennent une relation symbiotique. Cette symbiose est définie comme une association biologique durable et mutuellement bénéfique entre deux organismes vivants. Les bactéries se développent dans des conditions favorables de température, de pH, de nutrition et d'humidité appropriées, fournies par le corps

Synthèse bibliographique

humain, tandis que le microbiote contribue notamment au développement du système immunitaire, à la digestion et à la protection contre les bactéries nocives.

L'utilisation de probiotique peut restaurer une symbiose perturbée causée par divers facteurs et cette option devient particulièrement utile pour rétablir l'équilibre de la flore (Grattepanche, 2022).

3.1. Définition des probiotiques

La définition des probiotiques a évolué au cours des années. La définition généralement adoptée a été proposée par l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture "FAO" en 2002 : « le terme probiotique désigne aujourd'hui un microorganisme vivant qui, lorsqu'il est ingéré en quantité adéquate exerce un effet bénéfique sur la santé de l'hôte »

3.2. Voies d'administration des probiotiques

Il existe deux voies d'administration pour les probiotiques dans le domaine de la santé et de la reproduction.

- **La voie orale** : souvent sous forme de gélule, la voie orale est la moins contraignante et la plus simple. Les probiotiques oraux sont formulés de manière à résister au mieux à la digestion grâce à des méthodes d'encapsulation et d'enrobage. Malgré cela, une perte de lactobacilles est inévitable pendant la digestion, mais l'objectif est de la réduire au minimum (Grattepanche, 2022). Dans la majorité des cas de manifestations génitales à caractère infectieux, le recours à des traitements anti-infectieux par voie systémique n'est pas très préconisé (Bergogne-Bérézin, 2007).
- **La voie vaginale** : sous forme d'ovules, de capsules ou de tampons, la voie d'administration privilégiée pour les probiotiques dans le traitement des de la dysbiose vaginale est la voie vaginale (locale). Ils stimulent la croissance des micro-organismes endogènes dans la cavité vaginale, et agissent en fournissant de nouvelles bactéries lactiques endogènes, influençant directement la composition de la flore bactérienne (Grattepanche, 2022).

3.3. Action des probiotiques en milieu vaginal

Synthèse bibliographique

Les probiotiques peuvent avoir des effets bénéfiques sur les voies vaginales de diverses façons, notamment en produisant de l'acide lactique et du peroxyde d'Hydrogène pour abaisser le pH vaginal. En outre, les probiotiques peuvent produire des composés antimicrobiens et stimuler le système immunitaire afin de contribuer à maintenir l'équilibre bactérien dans les voies vaginales (Liisa et al., 2022). En adhérant aux épithéliums vaginaux, les probiotiques peuvent inhiber l'adhésion des bactéries pathogènes et utiliser les mêmes substances nutritives que ces derniers limitant ainsi leur croissance (Chee et al., 2020).

En revanche, la voie vaginale, bien qu'elle permette une administration plus directe et limite les pertes de *lactobacilles*, est souvent perçue comme inconfortable par les patientes. Les formes à enfoncer profondément dans le vagin peuvent être gênantes, notamment si la zone est déjà irritée et douloureuse. Les probiotiques sous forme de tampons peuvent être pratiques pour gérer les déséquilibres pendant les menstruations, à condition que celles-ci durent au moins trois jours, faute de quoi les probiotiques n'auront pas le temps d'agir (Grattepanche, 2022).

3.4. Principaux probiotique utilisés pour le microbiote vaginal

Les probiotiques sont généralement des bactéries bénéfiques, comme certains souches de *lactobacilles* et les bifidobacteries mais certaines levures peuvent également être utilisées. Le **Tableau IV** résume les espèces les plus fréquemment utilisées comme probiotiques vaginaux.

Tableau IV. Les espèces des bactéries utilisées comme probiotique pour le microbiote vaginal (Falagas et al., 2007) ;(Abid et al., 2022).

<i>Genre</i>	<i>Espèce ou souche</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. cispatus, L.jensenii, L. rhamnosus, L. acidophilus, L.plantarum</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.longum</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S.cerevisiae</i>

3.4.1. Le genre *lactobacillus*

Les *lactobacilles* sont un groupe de bactéries à Gram-positif appartenant à la famille des *Lactobacillaceae*. Ce sont des anaérobies facultatifs. Ils sont répandus dans la nature et se

Synthèse bibliographique

trouvent dans divers habitats tels que les plantes, les sols, les aliments fermentés et les muqueuses des mammifères, ainsi que l'intestin et le vagin (**Martin et Suárez, 2010**).

Ces bactéries ont une forme généralement allongée, sont généralement non mobiles et ne forment pas de spores (**Martin et Suárez, 2010**).

Dans le contexte de la santé humaine, les lactobacilles sont souvent utilisés en tant que probiotiques pour maintenir un équilibre sain dans la flore vaginale. Les lactobacilles produisent de l'acide lactique et d'autres substances qui aident à maintenir un pH vaginal acide (**Martin et Suárez, 2010**), ce qui crée un environnement défavorable à la croissance des agents pathogènes et contribue à prévenir les infections vaginales telles que la vaginose bactérienne et les infections à levures. (**Petrova et al., 2015**)

L'utilisation de probiotiques à base de lactobacilles peut aider à restaurer et à maintenir l'équilibre de la flore vaginale chez les femmes ayant des niveaux réduits de lactobacilles ou des dysbioses. De plus, les métabolites produits par ces probiotiques ont également des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses du col de l'utérus (**Wang et al., 2019**).

Les souches de *lactobacilles* les plus couramment utilisées en tant que probiotiques pour la santé vaginale comprennent *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus reuteri*. (**Falagas et al., 2007**)

3.4.2. Le genre *Saccharomyces*

Bien que les champignons soit présent en nombre moins élevé que les bactéries dans le microbiote vaginale mais ils restent des constituant important dans sa composition. L'espèce *Saccharomyces cerevisiae* est connue sous le nom levure de bière ou levure de boulanger, mais son nom systématique fait référence au saccharose : (saccharo) qui signifie sucre, Myces signifie (champignon) (**Larpent., 1991**).

Elle est souvent associée à la fermentation de la bière et du pain mais elle peut également être présente dans le microbiote vaginal. Sa présence dans le microbiote vaginal n'est pas toujours pathologique mais peut être due à certains facteurs qui déséquilibrent la flore vaginale telle que les hormones, le diabète ou l'augmentation du pH du milieu. Plusieurs études ont prouvé que *S.cerevisiae* aurait un effet probiotique en protégeant contre les infections en milieux vaginal (**Decherf et al., 2020**).

Synthèse bibliographique

En effet, *S.cerevisiae* est considéré comme un agent antifongique et anti-inflammatoire dans la thérapie de la candidose vaginale notamment en inhibant la croissance de *Candida albicans*, la principale espèce de levure impliquée dans la candidose vaginale. Une action anti-inflammatoire locale a également été observée **(Pericolini et al., 2017)**.

De plus, cette levure agit comme un agent antimicrobien pour la thérapie de la vaginose bactérienne. Son utilisation a entraîné une réduction significative de la charge bactérienne vaginale ainsi qu'une amélioration de l'équilibre du microbiote vaginal par la production de cytokines et d'anticorps dans le tractus génitale et des enzymes qui dégradent les biofilms bactéries pathogènes. Elle crée un environnement défavorable pour les bactéries pathogènes en réduisant l'acidité du milieu vaginal par la production de l'ammoniaque en tant qu'agent antimicrobien pour la prévention et le traitement des infections vaginales. Les probiotiques à base de *Saccharomyces cerevisiae* aurait un effet décisif sur la croissance des principaux pathogènes vaginaux tels que *Gardnerella vaginalis* et *Candida albicans* **(Abid et al., 2022) ; (Hall et Noverr, 2017)**.

Une étude menée par Eva Pericolini et ses collègues en 2017 a évalué l'activité thérapeutique d'un probiotique à base de *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats ont montré que l'administration intra vaginale de ce probiotique réduirait la charge fongique, l'inflammation et les symptômes associés à la candidose vaginale. Ces effets bénéfiques peuvent être attribués à la capacité de *Saccharomyces cerevisiae* à inhiber la croissance et la prolifération des *Candida albicans* **(Hall et Noverr, 2017) ; (Gabrielli et al., 2018)**.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Prélèvements vaginaux

1.1. Origine des prélèvements

Cette étude est effectuée sur 09 prélèvements de femmes ayant consulté au service de gynécologie d'un établissement hospitalier privé de la wilaya de Bejaïa entre Janvier et Mars 2023. Les antécédents des patientes ont été fournis par le gynécologue responsable du service. Le questionnaire) comprend des informations basiques (âge, motif de consultation, état infectieux et prise d'antibiotiques).

1.2. Méthode de prélèvement

Le prélèvement vaginal est réalisé par le gynécologue, par mise en place d'un speculum stérile sans nettoyage antiseptique de l'exocol. Un écouvillon est introduit dans l'endocol en effectuant un mouvement rotatoire. L'écouvillon est ensuite introduit dans 9ml d'un milieu de culture liquide et constitue l'échantillon. Pour chaque prélèvement, quatre milieux différents ont été utilisés. Ces derniers sont acheminés rapidement au laboratoire.

2. Isolement, purification et identification des souches

2.1. Isolement des Lactobacilles

Pour chaque prélèvement, un écouvillon est plongé directement à l'intérieur de 9 ml d'un rechercher quatre espèces de lactobacilles. Les tubes sont ensuite incubés 24-48h à 37°C. Des isollements en stries sont effectués sur gélose à partir de chaque bouillon positif comme décrit dans le **Tableau V**. La composition détaillée des milieux de culture est donnée en Annexe.

Tableau V. Milieux utilisés lors de l'isolement

Espèce	Bouillon de culture	Gélose	Référence
<i>Lactobacillus iners</i>	MRS+1% de sang frais	MRS+1% de sang frais	Falsen et al. 1999
<i>Lactobacillus jensenii</i>	MRS	MRS	Hassoon, 2012
<i>Lactobacillus gasseri</i>	BHA	BHI	Parolin et al.2015
<i>Lactobacillus crispatus</i>	MRS	MRS + sang cuit	Martin et al.2008

Les boites ont été incubées à 37 °C de 24 à 72h avec exception pour *Lactobacillus iners* qui nécessite 5 jours d'incubation à 37°C.

Matériel et méthodes

2.2. Isolement des souches fongiques

Pour chaque prélèvement, un enrichissement est réalisé en inoculant l'écouvillon directement dans 9 ml de bouillon nutritif additionné de chloramphénicol à 0.05% en incubant pendant 24- 48 h. Des isolements en stries sont effectués sur gélose DG18 additionné de chloramphénicol à 0.05% à partir de chaque bouillon positif suivi d'une incubation à 37°C de 24-72 h.

3. Purification et identification phénotypique des souches

3.1. Identification des souches de *Lactobacilles*

La purification consiste à faire des repiquages successifs (gélose ↔ bouillon) jusqu'à l'obtention d'une culture pure de colonies caractéristiques et bien isolées en vérifiant séquentiellement la forme, l'organisation cellulaire, le Gram et la présence ou l'absence d'une catalase pour les *Lactobacilles*. L'identification des souches est réalisée à l'aide d'une étude morphologique et physiologique : l'identification préliminaire est réalisée en se rapportant à certaines conditions de culture (aspect colonial sur milieu spécifique, T° de croissance) et aux résultats de l'observation microscopique à savoir, la coloration de Gram et la forme et organisation cellulaire.

3.2. Identification des souches de fongiques

Une purification a également été effectuée pour les souches fongiques jusqu'à l'obtention d'une culture pure de colonies caractéristiques et bien isolées en vérifiant séquentiellement la forme, l'organisation cellulaire après coloration au Bleu de Méthylène.

Un test de filamentation est réaliser sur toutes les souches pour différencier les différentes espèces de levures présentes dans le microbiote vaginal, il est particulièrement utile pour distinguer *Candida* de *Saccharomyces*, car c'est difficiles à différencier en se basant uniquement sur des critères morphologique. Ce test a été effectué en ensemençant une colonie dans du sérum humain. Après 3 heures d'incubation à 37°C on effectue un montage d'état frais afin de rechercher des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans* (Karasowska et al., 2009).

Matériel et méthodes

La présence de tubes germinatifs confirme leur appartenance à l'espèce *Candida albicans*. En revanche, leur absence indique qu'ils appartiennent à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Cette caractéristique permet de différencier ces deux espèces.

4. Caractérisation des souches

4.1. Activité hémolytique :

Pour vérifier l'activité hémolytique des souches de *Lactobacilles*, leurs cultures fraîches sont déposées en spots à la surface d'une gélose de base Columbia (Liofilchem, Italie) additionnée de 5 % (v/v) de sang humain (fourni par l'organisme d'accueil) puis incubée pendant 24 h à 37°C.

Au bout de cette période d'incubation, les géloses sont examinées pour l'apparition ou non de zones hémolytiques autour des spots (**Ait Ouali et al. 2014**).

4.2. Tests d'activités antibactériennes

4.2.1. Test des spots

L'activité antibactérienne est déterminée à l'égard de deux souches bactériennes pathogènes de références *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* appartenant au soucier du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'université de Bejaïa.

L'activité antibactérienne des souches lactiques à l'égard des souches pathogènes est mise en évidence par un test d'antagonisme direct : Test des spots de Schillinger et Luke 1989 tel que décrit par **Barache et al. (2020)**. Après remplissage des boîtes de Pétri avec de la gélose MRS, solidification et séchage, 5 µl des cultures des Lactobacilles (10^8 UFC/ml) obtenues après 18 h d'incubation dans du bouillon MRS sont déposés en spots à l'aide d'une micropipette. Les boîtes sont ensuite séchées pendant 30 min puis incubées à 37°C/24 h. Au terme de la période d'incubation, les géloses sont recouvertes par 10 ml d'une GN molle en surfusion préalablementensemencée avec 1 ml d'une culture fraîche de la souche cible puis ré-incubées à 37°C.

4.2.2. Test des puits

Pour la méthode de test des puits, les boîtes ont été remplies avec de la gélose nutritive (10 ml), laissée à solidifier puis recouverte de 15 ml de gélose GN molle inoculée avec la souche

Matériel et méthodes

cible (10^7 UFC/ml). Après solidification, des puits ont été creusés dans la gélose et remplis avec 50 μ l de surnageant de culture. Les boîtes ont été incubées pendant 24 h à 37°C.

L'activité antibactérienne a été révélée par la présence de zones d'inhibition autour des spots ou des puits. Le diamètre de ces zones a ensuite été mesuré en millimètre (**Barache et al., 2020**).

Résultats Et Discussions

Résultats et discussions

1. Isolement et identification présomptive des souches lactiques et fongiques

Cent quarante-quatre (144) isolats ont été obtenus à partir de neuf (9) différents prélèvements vaginaux de femmes ayant consulté au service de gynécologie d'un établissement hospitalier privé de la wilaya de Bejaïa. Les souches ont été codées suivant le numéro du prélèvement (1-9) suivi d'une lettre (A, B, C, D et E) correspondant au milieu de culture utilisé (**Tableau VI**). La composition des milieux est mentionnée en annexe.

Tableau VI. Milieux utilisés pour l'isolement des souches lactique et fongique

Espèce	Bouillon de culture	Gélose	Code
<i>Lactobacillus jensenii</i>	MRS	MRS	A
<i>Lactobacillus iners</i>	MRS + 1% Sang	MRS + 1% Sang	B
<i>Lactobacillus gasseri</i>	BHI	BHA	C
<i>Lactobacillus crispatus</i>	MRS	MRS + Sang cuit	E
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	BN + Chloramphénicol 0.05%	DG18 + Chloramphénicol 0.05%	D

1.1. Caractérisation des souches lactiques

Sur la base des deux critères spécifiques du groupe des bactéries lactiques, à savoir le Gram positif et l'absence d'une catalase et en se référant aux conditions de culture (milieu MRS pH 4,5 ou BHA) et à la forme cellulaire, seize (16) isolats ont été présumés appartenir au genre *Lactobacillus*. Les isolats lactiques ont été présumés appartenir aux espèces *L.iners*, et *L. gasseri* selon les conditions de culture comme le montre le **Tableau VII**.

Résultats et discussions

Tableau VII. Nombre de souches obtenues pour chaque espèce de lactobacille

Espèces	Nombre de souches obtenues
<i>Lactobacillus gasseri</i>	12 souches
<i>Lactobacillus iners</i>	4 souches
<i>Lactobacillus crispatus</i>	0
<i>Lactobacillus jensenii</i>	0

Sur l'ensemble des isolats, onze (11) souches ont été présumé appartenir à l'espèce *Lactobacillus iners*. Comme *L.iners* ne se cultive pas facilement sur la gélose MRS, mais peut se développer en anaérobiose sur la gélose au sang, il a été négligé dans un premier temps par les méthodes de culture traditionnelles (Enevold et al., 1999).

Afin d'augmenter les chances d'avoir plusieurs espèces, l'idéal serait d'utiliser plusieurs milieux d'isolement solides (MRS, Columbia au sang, BHI et gélose chocolat)(Martin et al., 2008) ;(Hasson et al., 2011);(Parolin et al., 2015). D'où notre stratégie d'isolement.

1.2. Caractérisation des souches fongiques

Selon les conditions de culture (milieu DG18 + chloramphénicol 0.05%), sept(7) isolats ont été présumé être des levures. L'observation sous microscope optique après coloration au bleu de méthylène a permis d'observer de grandes cellules sphériques typiques des levures (figure 5).

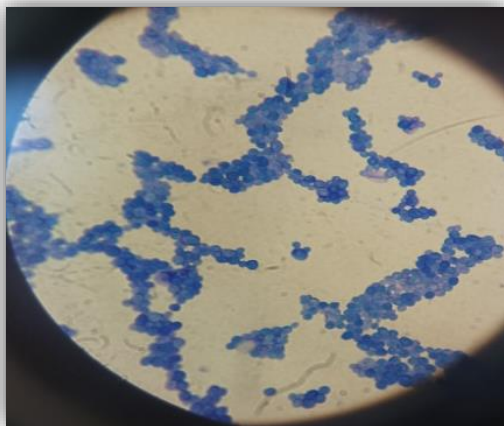


Figure 5. Photographies optiques (grossissement x100) de l'aspect cellulaire des isolats fongiques après coloration au bleu de méthylène.

Résultats et discussions

L'ensemble des isolats fongique a été soumis au test de filamentation afin de déterminer l'appartenance à l'espèce *Candida albicans* ou *Saccharomyces cerevisiae*. Des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans* ont été observés à l'état frais. Ce qui élimine leurs appartenances à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*.

Bien que les *lactobacilles* soient majoritaires, la présence d'espèce du genre *Candida* au sein du microbiote vaginal est normal (Sobel et al., 2016) et cohérente avec les propriétés du milieu DG18.

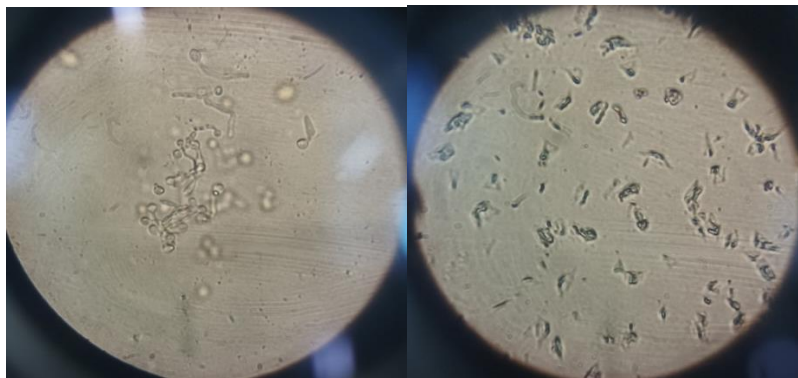


Figure 6. Photographie optique (grossissement $\times 40$) pour la photo à gauche et (grossissement $\times 100$) pour la photo à droite de l'aspect cellulaire des souches fongique après incubation 3 heures dans du sérum humain.

2. Caractérisation des souches isolées

2.1. Activité hémolytique des souches isolées

L'activité hémolytique sur gélose au sang des souches de *lactobacille* est montrée dans la **Figure 7**, Le type (α , β , γ) d'hémolyse est attribué selon (Delarras, 2007)

Sur les seize (16) souches de *lactobacille* testées, treize (13) souches (81.25%) n'ont révélé aucune activité hémolytique (γ), cependant trois (3) souches (18.75%) de larges auréoles ont été observées indiquant une hémolyse (**Annexe 2**).

En effet, pour les souches (1B4 et 2B4) présumées *L.iners* l'auréole était transparente ce qui signifie une dégradation complète du sang (hémolyse de type β). L'auréole observée autour de la souche (1C4) présumées *L.gasseri* était de couleur verdâtre ce qui indique une dégradation partielle du sang (hémolyse de type α).

Résultats et discussions

Cela suggère que certaines souches produisent des enzymes capables de dégrader les globules rouges.

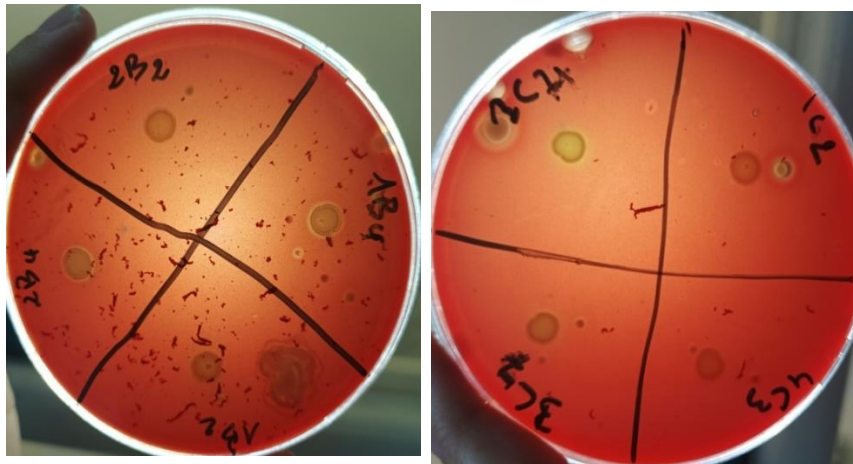


Figure 7. Activité hémolytique des souches de *Lactobacillus*

Il existerait une certaine variabilité génétique au sein des souches de *L.iners* et il est possible que certaines souches puissent présenter des variations interindividuelles de leur activité hémolytique (Pino et al., 2019).

La diversité génétique entre les souches de la même espèce peut conduire à des différences dans les capacités métaboliques et fonctionnelles, y compris l'activité hémolytique. De plus, les interactions avec les autres micro-organismes du microbiote vaginal peuvent influencer l'expression de l'activité hémolytique chez ces souches (Pino et al., 2019).

L'absence d'activité hémolytique pour certaines souches peut être due à la différenciation des conditions environnementales. Il peut avoir plusieurs raisons telles que des variations génétiques entre les souches et les conditions de croissance (Itoh et al., 2011).

2.2. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches isolées

2.2.1. Résultats du test des spots

Parmi les seize (16) souches de lactobacilles qui ont été testées, seuls deux (2) souches (12.5%) ont révélé une activité inhibitrice à l'égard des souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Les diamètres des zones d'inhibition, ont été entre 12 à 25 mm pour la souche (4C1) à l'égard des souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et 13 à 25 mm pour la souche (2C1) (Annexe3), à l'égard des souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Résultats et discussions

87.5% des souches n'ont montrée aucune activité, Ceci peut être due en partie à la surcharge des pathogènes dans la boîte de culture.

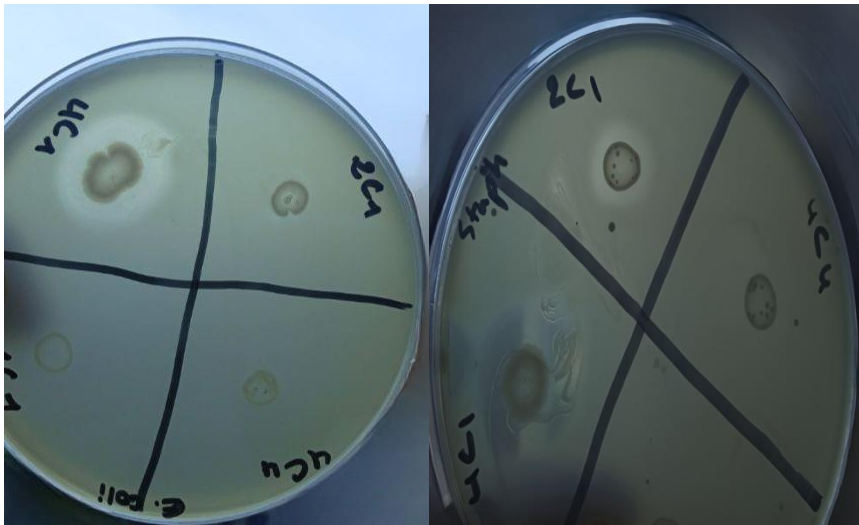


Figure 8.Activité antimicrobienne des souches lactiques à l'égard d'*Escherichia coli* sur la boîte à gauche et *Staphylococcus aureus* sur la boîte à droite.

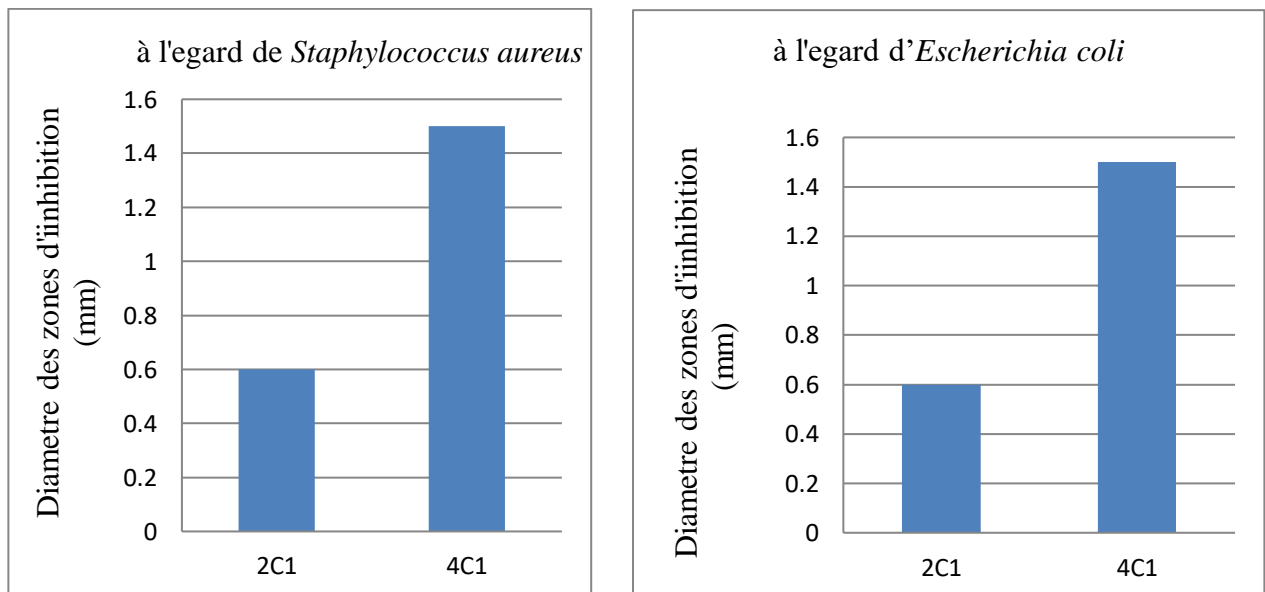


Figure 9.Résultats de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles vaginaux à l'égard de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* par le test des spots.

Résultats et discussions

2.2.2. Résultats du test des puits

L'activité antimicrobienne des surnageant de seize(16) souches lactiques a été testée à l'égard de deux souches pathogènes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Les surnageant de culture ont été testés par la technique des puits.

Les diamètres des zones d'inhibition des souches de lactique ont été entre 1.4 et 1.8 mm à l'égard de *Staphylococcus aureus* et entre 1.3 et 1.6 mm à l'égard d'*Escherichia coli*.

Cela suggère que les souches présumé être des *L. iners* isolées du milieu vaginal ont la capacité de réduire la croissance d'*Escherichia coli* (*E. Coli*) et du *Staphylococcus aureus* (*Staphylocoque*) grâce aux substances qu'elles secrètent pendant leur croissance. Comme l'acide lactique qui est un produit métabolique important. Il abaisse le pH du milieu environnant, créant ainsi un environnement plus acide, ce qui est défavorable à la croissance des pathogènes comme *E. coli* et le *Staphylocoque* (**Reid, 2017**).

En plus de l'acide lactique, elles peuvent également produire des substances antimicrobiennes spécifiques appelées bactériocines. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens qui ont la capacité de tuer ou d'inhiber la croissance d'autres bactéries, y compris des bactéries pathogènes telles qu'*E. Coli* et le *Staphylocoque*. Ces bactériocines sont une autre arme utilisée par les lactobacilles pour maintenir un équilibre sain du microbiote vaginal (**Paroline et al., 2018**)

Le surnageant des bactéries lactiques, peut contenir non seulement de l'acide lactique et des bactériocines, mais aussi d'autres métabolites spécifiques, des enzymes et d'autres composés qui ont des effets variés sur l'environnement microbien et la santé vaginal (**Mendes-Soares et al., 2014**).

Par conséquent, il est important de caractériser plus en détail les souches de lactobacilles isolées afin de mieux comprendre leurs propriétés et leur potentiel en tant qu'agents probiotiques pour maintenir la santé vaginale.

Résultats et discussions

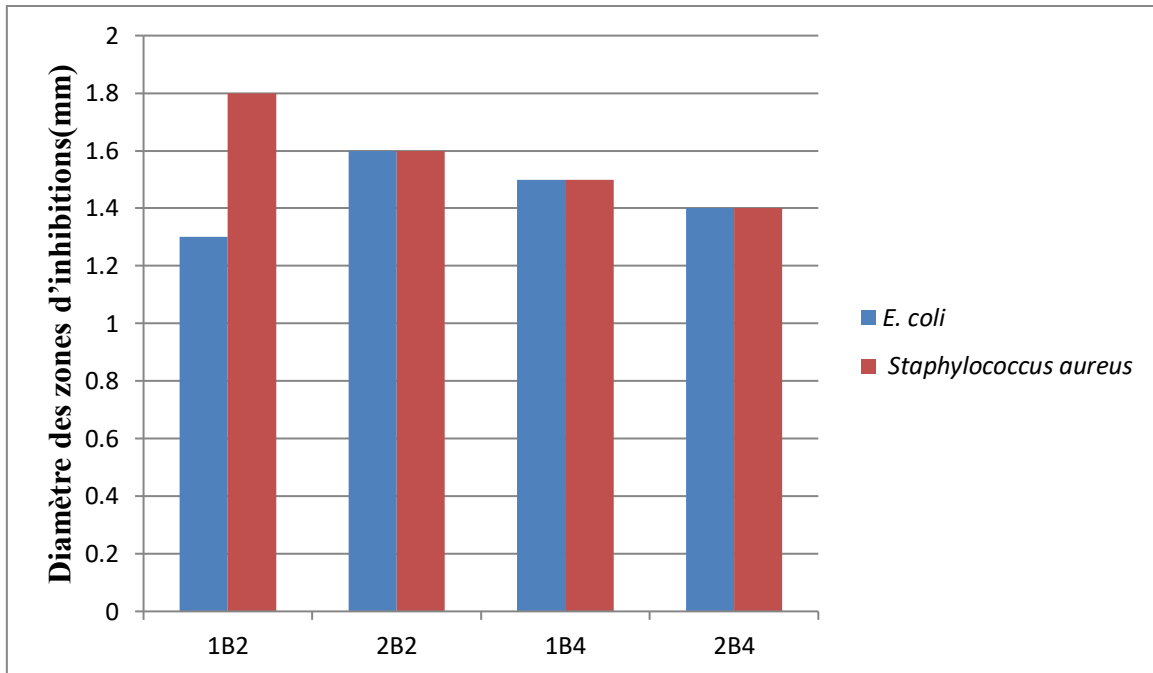


Figure 10. Résultats de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles vaginaux à l'égard de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* par le test des puits.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Cette étude a permis d'obtenir cent quarante-quatre (144) isolats à partir de prélèvements vaginaux de femmes consultant un service de gynécologie dans un établissement hospitalier privé de la wilaya de Bejaia. Parmi ces isolats, douze (12) souches ont été présumées comme appartenant à l'espèce *Lactobacillus gasseri*, quatre (4) souches ont été présumées être des *Lactobacillus iners*, tandis que sept (7) isolats ont été présumés être des levures.

L'évaluation de l'activité hémolytique des souches lactiques a révélé que la majorité des souches (81,25%) n'avaient aucune activité hémolytique. Cependant, certaines souches (18,75%) ont montré une hémolyse de type α ou β , indiquant la présence d'enzymes capables de dégrader les globules rouges. Ces différences dans l'activité hémolytique peuvent être associées aux différences génétiques et phénotypiques entre les souches et aux interactions avec d'autres micro-organismes au sein du microbiote.

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, un nombre limité de souches a montré une faible activité inhibitrice à l'égard d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*.

Sur la base des résultats de l'isolement des cellules fongiques, aucune souche de *Saccharomyces cerevisiae* n'a été isolée, et les sept souches isolées ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *Candida albicans* par leur capacité à former des filaments qui a été mise en évidence par le test de filamentation. Il convient de souligner que *Candida albicans* est considéré comme un commensal de la flore vaginale chez de nombreuses femmes en bonne santé et que sa présence dans la flore vaginale n'indique pas nécessairement une infection ou une pathologie.

En résumé, cette étude a mis en évidence l'importance de comprendre les caractéristiques probiotiques des lactobacilles dans le microbiote vaginal. Cependant il est nécessaire de poursuivre des études et des recherches plus approfondies afin de mieux comprendre leur potentiel probiotique, tels que :

- Identification moléculaire des souches isolées (ADN16S ou Maldi-Tof)
- Caractérisation approfondie des propriétés probiotiques des lactobacilles isolés (capacité à adhérer aux cellules épithéliales vaginales, à produire des composés

Conclusion

antimicrobiens, moduler l'inflammation) pour mieux comprendre leurs mécanismes d'action et leurs interaction avec les différents micro-organismes.

- Identification des mécanismes d'antagonisme présentée par *Candida albicans* et leurs interaction avec d'autres membres du microbiote vaginal.
- Evaluation et optimisation du potentiel probiotique des bactéries lactiques (les combinaisons synergiques, les doses...) et explorer d'autre application pour ces probiotique

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abid R, Waseem H, Ali J, Ghazanfar S, Muhammad Ali G, Elsbali AM, Alharethi SH.**(2022). Probiotic Yeast *Saccharomyces*: Back to Nature to Improve Human Health. *J Fungi (Basel)*, 8(5),444.
- **Ait Ouali F, AlKassa I, Cudennec B, Abdallah M, Bendalli F, Sadoun D, Chihib N et Drider D.**(2014). Identification of *Lactobacilli* with inhibitory effect on biofilm formation by pathogenic bacteria on stainless steel surface. *International Journal of Food Microbiology*, 191,116-124.

B

- **Barache N, Ladjouzi R, Belguesmia Y, Bendali F, Drider D.** (2020). Abundance of *Lactobacillus plantarum* Strains with Beneficial Attributes in Blackberries (*Rubus* sp.), Fresh Figs (*Ficus carica*), and Prickly Pears (*Opuntia ficus-indica*) Grown and Harvested in Algeria. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 12(4),1514-1523.
- **Bergogne-Bérézin, E.**(2007). Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. *Antibiotiques*, 44-139.
- **Boumediene, anissa.** (2018). Le rôle insoupçonné du microbiote vaginal dans la sexualité.
- **Poreau, B.** (2013). Microbiome et commensalisme : instabilité d'une association biologique. *Bulletin d'histoire et d'épistémologie des sciences de la vie*, 20, 139-150.

C

- **Chee WJY, Chew SY, Than LTL.** (2020). Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microb Cell Fact.* 7; 19(1),203.
- **Clabaut, Maximilien.** (2019). Effet de l'hormone stéroïdienne 17 β -estradiol sur deux souches de *Lactobacillus crispatus*, marqueur de l'homéostasie vaginale. Université de Rouen Normandie.

Références bibliographiques

- **Cohen CR, Lingappa JR, Baeten JM, Ngayo MO, Spiegel CA, Hong T, Donnell D, Celum C, Kapiga S, Delany S, Bukusi EA.** (2012). Bacterial vaginosis associated with increased risk of female-to-male HIV-1 transmission: a prospective cohort .

D

- **Decherf A, Dehay E, Boyer M, Clément-Ziza M, Rodriguez B, Legrain-Raspaud S.** (2020). Recovery of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 in Vaginal Samples of Healthy Women after Oral Administration, Nutrients.
- **Delarras, C.** (2007). Microbiologie Pratique pour le Laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. TED & DOC. Paris.
- **Di Paola, M, Sani, C, Clemente, A, Iossa M, Perissi, E, Castronovo, G, Tanturli, M, Rivero D , Cozzolino F, Cavalieri D, et al.**(2017). Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection. That is distinct from bacterial vaginosis: Aerobic vaginitis. BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.109: 34-43.
- **Donders G, Vereecken A, Bosmans E, DeKeersmaecker A, Salembier G, Spitz B.**(2002) .Definition of a type of abnormal vaginal flora.
- **Dumont Yann, Hélène Jean-Pierre, Sylvain Godreuil.** (2020).Le microbiote vaginal déséquilibré et impact. Revue Francophone des Laboratoires.

E

- **Enevold C, Falsen P.** (1999). Caractérisation phénotypique et phylogénétique d'une nouvelle espèce de *Lactobacillus* d'origine humaine: description de *Lactobacillus iners*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology .49(1) 217-221.

F

- **Falagas M, Betsi GI, Athanasiou S,** (2007) .Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis, Clinical Microbiology and Infection.

Références bibliographiques

G

- **Goaziou, pauline.** (2021). Non-exposure to vaginal microbiota during caesarean birth and excess body weight, Sages-Femmes.
- **Gabrielli E, Pericolini E, Ballet N, et al.** (2018). Probiotique à base de *Saccharomyces cerevisiae* comme nouvel agent antifongique et anti-inflammatoire pour le traitement de la candidose vaginale, Beneficial microbes.
- **Grattepanche, Astrid Cécile Emma.** (2022). probiotiques gynécologiques en officine. université de Bordeaux.

H

- **Hardy L, Cerca N, Jespers V, Vaneechoutte M, Crucitti T.** (2017). Bacterial biofilms in the vagina. Res Microbiol,168(9-10),865-874.
- **Hall R, A, Noverr M.C.** (2017). Fungal interactions with the human host: exploring the spectrum of symbiosis.ScienceDirect.
- **Hanneke Borgdorff, Marijn C. Verwijs, Ferdinand W.N.M. Wit, EvgueniTsvitsivadze, Gilles F. Ndayisaba, Rita Verhelst, Frank H. Schuren, Janneke H.H.M, van de Wijgert.** (2015) .The impact of hormonal contraception and pregnancy on sexually transmitted infections and on cervico vaginal microbiota in African sex workers.
- **Hasson U, G. A.** (2011) .Couplage cerveau-cerveau: un mécanisme de création et de partage d'un monde social, Tendances Cognitives Sciences, 15(11).518-529.
- **Huang, B, Fettweis J.M., Brooks J.P., Jefferson K.K., Buck G.A.** (2014).The Changing Landscape of the Vaginal Microbiome .Clinics in Laboratory Medicine.

I

- **Itoh H, S. T.** (2011) .*Lactobacillus gasseri* OLL2809 inhibits development of ectopic endometrial cell in peritoneal cavity via activation of NK cells in a murine endometriosis model, Cytotechnology, 63(2), 205-210.

Références bibliographiques

K

- **Kamina, Pierre.** (1993) Anatomie clinique de l'appareil génital féminin.
- **Krasowska , A., Murzyn , A., Dyjankiewicz , A., Lukaszewicz , M., Dziadkowiec, D.** (2009). L'effet antagoniste de *Saccharomyces boulardii* sur la filamentation, l'adhésion et la formation de biofilms de *Candida albicans*, FEMS Yeast Research. 9 (8), 1312–1321.

L

- **Larpent I, P.** (1991).Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires. apria.
- **Li, C., Wang, T., Li, Y., Zhang, T., Wang, Q., He, J., Wang, L., Li, L., Yang.** (2019). Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. European Journal of Pharmacology.
- **Liisa Lehtoranta, ReetaAla-Jaakkola, Arja Laitila, Johanna Maukonen.** (2022) Healthy Vaginal Microbiota and Influence of Probiotics across the Female Life Span. Finland.

M

- **Martin R, S. N.** (2008).Characterization of Indigenous Vaginal *Lactobacilli* from Healthy Women as Probiotic Candidates. International Microbiology.11 (5) 261-266.
- **Martín R, Suárez JE.** (2010).Biosynthesis and degradation of H₂O₂ by vaginal *lactobacilli*. Appl Environ Microbiol.76(2),400-5.
- **Maximilien Clabaut.** (2019).Effet de l'hormone stéroïdienne 17β-estradiol sur deux souches de *Lactobacillus crispatus*, marqueur de l'homéostasie vaginale. Université de Rouen Normandie.
- **Mendes-Soares, H., Suzuki, H., Hickey, R. J., and Forney, L. J.** (2014). Comparative Functional Genomics of *Lactobacillus spp.* Reveals Possible Mechanisms for Specialization of Vaginal Lactobacilli to Their Environment. J. Bacteriol. 196 (7), 1458–1470.

Références bibliographiques

- **Miller EA, Beasley DE, Dunn RR, Archie EA.** (2016). Dominance des *Lactobacilles* et pH vaginal : pourquoi le microbiome vaginal humain est-il unique. *Frontières en microbiologie*.
- **Muhleisen, A. L., and Herbst-Kralovetz, M. M.** (2016). Menopause and the vaginal microbiome. *Maturitas* 91, 42–50.

O

- **O’Hanlon, D. E., Moench, T. R., and Cone, R. A.** (2011). In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infectious Diseases* 11, 200.

P

- **Parolin C, M.A.** (2015). Isolation of Vaginal *Lactobacilli* and Characterization of Anti-Candida Activity. *PLoS One*. 10(6).
- **Paroline, C., Salvo, M., Frisco, G., Foschi, C., Giordani, B., Vitali, B., Marangoni, A., Calonghi, N.** (2018). *Lactobacillus crispatus* BC5 interfère avec l'infektivité de *Chlamydia trachomatis* par la modulation de l'intégrine dans les cellules cervicales. *Frontiers in Microbiology*, 9.
- **Paul L, Fidel, JR, and Jack D. SOBEL.** (1996). Immuno pathogenesis of Recurrent Vulvo vaginal Candidiasis. *Clinical Microbiology*. p.335-348.
- **Pauline Le Goaziou.** (2021). Non-exposition au microbiote vaginal lors de la naissance par césarienne et surpoids. *Sages-Femmes*.
- **Pericolini E, Gabrielli E, Ballet N, Sabbatini S, Roselletti E, CayzeeleDecherf A, Pélerin F, Luciano E, Perito S, Jüsten P, Vecchiarelli A, Pericolini E, Gabrielli E, Ballet N, Sabbatini S, Roselletti E, CayzeeleDecherf .** 2017. Therapeutic activity of a *Saccharomyces cerevisiae*-based probiotic and inactivated whole yeast on vaginal candidi.
- **Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S,** (2015). *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health.
- **Pierre Kamina.** (1993). Anatomie clinique de l'appareil génital féminin.
- **Pino A, Bartolo E, Caggia C, Cianci A, Randazzo CL.** (2019) Detection of vaginal *Lactobacilli* as probiotic candidates. *Sci Rep*, 9(1), 3355.

Références bibliographiques

R

- **Racine P-J, Janvier X, Clabaut M, et al.** (2020). Dialog between skin and its microbiota: Emergence of Cutaneous Bacterial Endocrinology *Exp Dermatol*.29:790–800.
- **Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, ... &Forney LJ.** (2011).Microbiome vaginal des femmes en âge de procréer. Actes de l'Académie nationale des sciences (PNAS).
- **Reid G.** (2017). The development of probiotics for women's health. *Can J Microbiol*. 63(4):269-277.

S

- **Sandra Borges, Joana Silva, Paula Teixeira.** (2013). The role of *lactobacilli* and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 289:479–489.
- **Sobel, J. D.** (2016). *Candidose* vulvo-vaginale récurrente, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 214(1) 15-21.
- **Sobel and sobel, R.** (2015).Metronidazole for the treatment of vaginal infections.*Expert Opinion on Pharmacotherapy*.Vol 16, No 7.

W

- **Wang H, Ma Y, Li R, Chen X, Wan L, Zhao W.**(2019).Associations of Cervicovaginal *Lactobacilli* With High-Risk Human Papillomavirus Infection, Cervical Intraepithelial Neoplasia, and Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Infect Dis*;220(8):1243-1254.

Annexes

Annexe1 : composition des milieux de culture selon le fournisseur

Tableau1 : Bouillon MRS (de Man Rogosa et Sharpe)

Composants	g /l
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique	2
Acétate de sodium	3
Citrate triammoniacale	2
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau 2 : Bouillon nutritif pH 7

Composants	g/l
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2.5
5Peptone	5
Chlorure de Sodium	5
Eau Distillée	Qsp 1L

Tableau 3 : Gélose Columbia pH7

Composants	g /l
Polypeptone	17
Peptone pancréatique	3
Axtrait de levure	3
Amidon de maïs	1
Chlorure de sodium	5
Agar	15
Eau distillée	Qsp 1L

Tableau 4 : Gélose Nutritive PH7

Composants	g /l
Tryptone	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar agar bactériologique	15

Tableau 5 : Bouillon BHI (Brain Heart Infusion) PH 7

Composant	g /l
Infusion de cœur de bœuf	5
Infusion de cervelle de veau	12,5
Proptéose- peptone	10
glucose	2
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate de sodium	2,5

Tableau 6 : Dg18 PH 5,6± 0,2

Composants	g /l
tryptone	5
glucose	10
Sulfate de magnésium 7H ₂ O	0,5
Phosphate monopotassique	1
Dichloran (dichloro-2,6-nitro-aniline)	0,002
chloramphénicol	0,1
agar	15

Annexe 2. L'activité hémolytique des bactéries lactique

la souche	type d'hémolyse
1B2	γ
2B2	γ
1B4	β
2B4	β
1C1	γ
2C1	γ
3C1	γ
4C1	γ
1C2	γ
3C2	γ
1C3	γ
4C3	γ
1C4	α
4C4	γ
1C7	γ
3C7	γ

Annexe 3. Diamètres des puits et des zones d'inhibition de souches de lactobacilles

Souche à tester	Diamètre des spots et des zones d'inhibition (mm)			
	Souche <i>E. coli</i>		Souche <i>staphylocoque</i>	
	spot	zone	spot	zone
1B2	0	0	0	0
2B2	0	0	0	0
1B4	0	0	0	0
2B4	0	0	0	0
1C4	0	0	0	0
1C2	0	0	0	0
4C3	0	0	0	0
3C7	0	0	0	0
3C2	0	0	0	0
1C3	0	0	0	0
3C1	0	0	0	0
1C7	0	0	0	0
1C1	0	0	0	0
4C1	10	25	10	25
2C1	6	12	7	13
4C4	0	0	0	0

Annexe 4. Des informations sur les prélèvements

N* de prélèvement	Age	Antécédents
1	30	Péritonite + Stérilité primaire
2	32	Obturation tubaire + stérilité secondaire
3	63	Cancer de l'endomètre
4	36	Stérilité primaire
5	54	Métrorragies post ménopausiques
6	64	Métrorragies post ménopausiques
7	56	Myomatose
8	40	contrôle
9	30	VIH

Résumé

Cette étude a été effectuée sur neuf (9) femmes ayant visité le service de gynécologie d'un établissement hospitalier privé de la wilaya de Béjaia entre Janvier et Mars 2023. L'objectif visé était d'isoler des souches probiotiques, en particulier des lactobacilles, à partir des prélèvements vaginaux et d'étudier leur potentiel probiotique. Au total seize (16) souches de lactobacilles (12 présumées appartenant à *L.gasseri* et 4 à *L.iners*) ainsi que sept (7) souches de *Candida albicans* ont été isolées. Parmi les souches de lactobacilles 3 souches ont montré une activité hémolytique. L'étude de l'antagonisme des souches de lactobacilles à l'égard de deux souches pathogènes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a été menée. L'activité inhibitrice à l'égard des souches cibles a été réalisée par le test des spots et a permis de détecter deux (2) souches de lactobacilles qui ont été présumés être des *L.gasseri* ayant un potentiel antimicrobien. En outre, 4 souches présumées être des *L.iners* ont révélé une activité antimicrobienne via le test des puits. Ce travail nous a permis d'isoler six (6) souches compatibles pour la production d'un produit probiotique bien que des études plus approfondies soient nécessaires pour les caractériser correctement.

Mots clés : Microbiote vaginal, caractérisation, *Lactobacillus*, probiotique, antagonisme.

Abstract

This study was carried out on nine (9) women who visited the gynecology department of a private health unit in the state of Béjaia between January and March 2023. The aim was to isolate probiotic strains, in particular lactobacilli, from vaginal samples and to study their probiotic potential. A total of sixteen (16) strains of lactobacilli (12 presumed to belong to *L.gasseri* and 4 to *L.iners*) and seven (7) strains of *Candida albicans* were isolated. Three (3) strains among the lactobacilli exhibited hemolytic activity. The antagonism of lactobacilli strains towards two pathogenic strains, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was studied. Inhibitory activity against the target strains was determined using the spot test, and two (2) strains of lactobacilli were detected that were presumed to be *L.gasseri* with antimicrobial potential. In addition, four (4) strains presumed to be *L.iners* showed antimicrobial activity via the well test. This work has enabled us to isolate six (6) strains that are compatible for the production of a probiotic product, although further studies are required to characterize them correctly.

Key words: Vaginal microbiota, characterisation, *Lactobacillus*, probiotic, antagonism.