



HAL
open science

Intérêt de l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale

Aude Crutchet

► **To cite this version:**

Aude Crutchet. Intérêt de l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01267052

HAL Id: dumas-01267052

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01267052v1>

Submitted on 3 Feb 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX
U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

N°29

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
Le 29 Janvier 2016

Par **Aude CRUTCHET**
Née le 12/06/1986

INTERET DE L'UTILISATION DES
PROBIOTIQUES EN THERAPEUTIQUE
UROGENITALE

Directeur de thèse
Dr. Catherine CHÈZE

Jury

Mme Dr. Catherine CHÈZE
Mme Dr. Françoise TESSIER
Mr Dr. Michel POMMAREDE

Maître de Conférences
Maître de Conférences
Pharmacien

Président
Assesseur
Assesseur

REMERCIEMENTS

AUX MEMBRES DU JURY

Merci au professeur Catherine Chèze, maître de conférence au département de pharmacognosie de la faculté de pharmacie, pour ses enseignements dispensés au cours de mes années de formation. Je vous remercie d'avoir accepté de diriger mon travail de thèse et de présider le jury en charge de son évaluation. Pour votre disponibilité, vos conseils, votre bienveillance et votre patience tout au long de la rédaction de ce travail, recevez, Madame, l'expression de ma sincère et respectueuse gratitude.

Merci au professeur Françoise Tessier, maître de conférence au département de bactériologie de la faculté de pharmacie, pour ses enseignements dispensés au cours de mes années de formation. Pour avoir accepté de participer au jury en charge de l'évaluation de mon travail, recevez, Madame, l'expression de ma sincère et respectueuse gratitude.

Merci enfin à Monsieur Michel Pommarède, docteur en pharmacie à Anglet pour m'avoir fait l'honneur et l'amitié de participer à ce jury. Merci pour ton accompagnement et tes conseils prodigués à l'occasion de nos collaborations et qui m'ont permis de progresser dans l'apprentissage de mon métier. Reçois, mon très bientôt cher confrère, l'expression de mon amitié et de ma sincère et respectueuse gratitude.

A MES PROCHEs

Merci à mes parents pour m'avoir permis de réaliser mes études de pharmacie dans les meilleures conditions. Merci à vous pour votre amour indéfectible, votre soutien sans faille, vos encouragements et votre GRANDE patience (oui j'ai mis le temps mais ma thèse est enfin terminée donc c'est bien vrai, tout vient à point à qui sait attendre). Recevez tous, Papa, Maman, mon frère Pierre-Alain, et les autres (grands-parents, oncles, tantes, cousins et cousines) l'expression de mon amour et de ma profonde et sincère gratitude.

Merci à mes amis, connus avant, pendant et après mes études, pour les merveilleux souvenirs constitués au cours de ces années. Puisseons-nous continuer de les enrichir dans le futur.

AUX PHARMACIENS D'OFFICINE

Merci à vous tous et à vos équipes qui m'avez accueillie dans vos entreprises au cours de mes stages et remplacements et m'avez permis par vos conseils, votre accompagnement, vos encouragements et votre bienveillance de devenir le pharmacien d'officine que je serai officiellement à l'issue de la soutenance de ma thèse. Recevez tous l'expression de mon respect et de ma gratitude sincère.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

TABLE DES MATIERES

Index des illustrations.....	6
INTRODUCTION	8
PREMIERE PARTIE : LA FLORE UROGENITALE PHYSIOLOGIQUE	10
I Aspect historique.....	10
II La flore urogénitale physiologique.....	11
II.A Anatomie urogénitale	11
II.A.1 Généralités	11
II.A.2 L'appareil urinaire	11
II.A.3 L'appareil génital.....	14
II.B Le Human Microbiome Project (HMP).....	17
II.C Biodiversité de la flore urogénitale.....	18
II.C.1 Diversité temporelle	18
II.C.2 Diversité de composition	22
II.C.3 Dynamisme du microbiote vaginal.....	24
II.D Rôle protecteur de la flore urogénitale	27
II.D.1 Rapports entre la flore et le glycogène vaginal	27
II.D.2 Activité anti microbienne des lactobacilles	29
PARTIE 2 : LES PATHOLOGIES DE L'APPAREIL UROGENITAL	33
I Les infections de l'appareil urinaire	33
I.A Physiopathologie des infections urinaires	33
I.A.1 Les symptômes infectieux.....	33
I.A.2 Les pathologies urinaires	34
I.A.3 Pathogénicité des infections urinaires	35
I.B Diagnostic microbiologique	38
I.B.1 Les outils diagnostiques	38
I.B.2 Les principaux agents pathogènes	40
I.C Traitements des infections urinaires	41
I.C.1 Les différentes molécules antibiotiques.....	41
I.C.2 Les stratégies thérapeutiques des cystites	42
II Les infections de l'appareil génital	45
II.A L'exploration clinique	45
II.B Les outils du diagnostic	45
II.B.1 Les prélèvements	45
II.B.2 Les critères cliniques	46
II.B.3 Les critères microscopiques	47
II.B.4 La mise en culture	49
II.C Les pathologies vaginales	51
II.C.1 La vaginose bactérienne non spécifique	51
II.C.2 Epidémiologie	51
II.C.3 La vaginite à Candida	58
- Estrogènes.....	59
- Antibiothérapie à large spectre	59
II.C.1 Les infections sexuellement transmissibles	64
• Examen direct	74
• Cultures.....	74
PARTIE 3 : LES PROBIOTIQUES DANS LA THERAPEUTIQUE UROGENITALE	77

I	Historique.....	77
II	Définition et rôle des différents traitements utilisés pour rééquilibrer la flore vaginale.	78
II.A	Les probiotiques.....	78
II.A.1	Définition.....	78
II.A.2	Les critères de sélection.....	79
II.A.3	Les souches à action probiotique.....	81
II.A.4	Sécurité d'utilisation des probiotiques.....	82
II.B	Les prébiotiques.....	82
II.C	Les symbiotiques.....	83
II.D	Formes et doses d'administration.....	83
II.E	Exemple de deux souches probiotiques aux propriétés démontrées sur la flore vaginale : <i>Lactobacillus rhamnosus GR-1</i> et <i>Lactobacillus reuteri RC-14</i>	83
II.E.1	Propriétés physiologiques et pharmacologiques.....	83
II.E.2	Capacité de colonisation du microbiote vaginal.....	84
II.E.3	Etudes d'efficacité.....	84
III	Les effets protecteurs des probiotiques.....	86
III.A	Mécanisme d'action contre les pathogènes.....	87
III.A.1	Mécanismes anti-bactériens.....	87
III.A.2	Mécanismes antiviraux.....	87
III.B	Etudes d'efficacité des probiotiques vis-à-vis des pathologies urogénitales.....	89
III.B.1	Probiotiques et infections urinaires.....	89
III.B.2	Probiotiques et vaginose bactérienne.....	90
III.B.3	Probiotiques et candidose.....	91
III.B.4	Probiotiques et virus.....	93
III.B.5	Probiotiques et MST.....	95
III.B.6	Probiotiques et accouchement prématuré.....	97
IV	Mesures d'accompagnement et de protection de la flore urogénitale.....	97
IV.A	L'hygiène.....	97
IV.B	Autres conseils.....	98

CONCLUSION..... 100

ANNEXE..... 101

BIBLIOGRAPHIE..... 108

Index des illustrations

Figure 1 : les appareils urinaires féminin et masculin[7]	11
Figure 2 : Représentation schématique de l'urothélium[8].....	13
Figure 3 : l'appareil génital féminin[9]	14
Figure 4 : muqueuse vaginale.....	16
Figure 5: variation de la muqueuse vaginale au cours de la vie [15].....	19
Figure 6 : régulation hormonale du cycle menstruel [17]	20
Figure 7 : modélisation de l'évolution du log du taux de variation de Jensen-Shannon au cours du cycle menstruel [18].....	21
Figure 8 : Diversité microbiologique analysée par le human microbiome project[19].....	22
Figure 9 : Espèces bactériennes dominantes dans les microbiotes humains.....	23
Figure 10 : Espèces bactériennes dominantes dans les microbiotes humains[21].....	24
Figure 11 : Dynamique des types d'états communautaires chez 32 femmes pendant 16 semaines[26].....	25
Figure 12 : variation des phylotypes dominants pendant 16 semaines [26].....	26
Figure 13 abondance relative en espèces de lactobacilles en fonction des concentrations en glycogène[31].....	28
Figure 14 : évolution de l'abondance en lactobacilles et du pH en fonction des taux de glycogène vaginaux[30]	29
Figure 15 : effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène[33].....	30
Figure 16 : classification des pathologies urinaires [39].....	34
Figure 20: frottis vaginal avec présence de cellules indicatrices (grand nombre de G. vaginalis fixées sur des cellules épithéliales) [57].....	53
Figure 21: colonies de mycoplasmes [61].....	54
Figure 22: mycose vaginale à C. albicans[76]	61
Figure 23: aspect du col dans l'infection à T. vaginalis [79]	65
Figure 24: écoulement anormal par infection à C. trachomatis chez l'homme [83].....	67
Figure 25: col infecté par Chlamydia trachomatis [84].....	68
Figure 26: Cycle de développement des chlamydias[82].....	69
Figure 27: urétrite purulente due à N. gonorrhoeae chez l'homme[86].....	73
Figure 28: infection à gonocoque chez une femme [86].....	74
Figure 29: les différents niveaux d'action pour rééquilibrer la flore urogénitale[88]	78
Figure 30: caractéristiques des souches probiotiques [91].....	79
Figure 31: mécanismes protecteur des lactobacilles vis-à-vis des virus sexuellement transmissibles [15].....	88
Tableau 1:interprétation des résultats de l'ECBU [47]	39
Tableau 2:classification des uropathogènes [47].....	40
Tableau 3:antibiotiquesutilisés dans le traitement des infections urinaires (réalisé à partir de eureka santé.fr)	41
Tableau 4 :stratégie thérapeutique des cystites simples [46]	43
Tableau 5: stratégie thérapeutique des cystites récidivantes [49]	43

Tableau 6: antibiotiques autorisés et contre-indiqués dans le traitement des infections urinaires de la femme enceinte [46]	44
Tableau 7: approche diagnostique des leucorrhées selon le germe suspecté [51].....	46
Tableau 8: sensibilité et spécificité des critères d’Amsel comparativement au score de Nugent	47
Tableau 9: attribution du score de Nugent [56].....	48
Tableau 10: Tableau récapitulatif des pathologies identifiables à l’examen direct après colorations usuelles (Gram, MGG) [51].....	49
Tableau 11 : examens directs et mise en culture des principaux prélèvements génitaux chez la femme (TAAN : technique d’amplification des acides nucléiques)	50
Tableau 12: diversité bactérienne de la vaginose non spécifique [58].....	52
Tableau 13: traitement de la vaginose bactérienne pendant la grossesse [66]	56
Tableau 14: sensibilité des espèces candida aux antifongiques [71].....	62
Tableau 15: Antifongiques à usage local [72].....	63
Tableau 16: manifestations cliniques des infections à C. trachomatis [82] (LGV : lymphogranulome vénérien).....	67
Tableau 17: avantages et limites des principaux échantillons urogénitaux [82].....	70
Tableau 18: diagnostique direct de C. trachomatis [82].....	72
Tableau 19: critères de sélection des probiotiques [89, 91,94]	80
Tableau 20: Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques[97]	81
Tableau 21: comparaison d’efficacité de différents dosages de L. rhamnosus GR-1 et L. fermentum RC-14 ou de L. rhamnosus GG à 0, 28 et 42 jours [106]	83
Tableau 22 : études randomisées de l’effet bénéfique des souches probiotiques Lactobacillus rhamnosus GR-1 et Lactobacillus reuteri RC-14	85
Tableau 23 : exemple de spécialités probiotiques à visée urogénitale.[96]	86
<i>Tableau 24: études d'efficacité des probiotiques dans le traitement de la vaginose bactérienne</i>	90
Tableau 25:études cliniques d’efficacité des probiotiques dans le traitement et la prévention de la candidose vaginale.....	92
Tableau 26: études sur les propriétés antivirales des probiotiques vis-à-vis du VIH.....	93
Tableau 27: études des probiotiques sur les virus de l’herpès génital	94
Tableau 28: études des effets des probiotiques sur les infections à Chlamydia trachomatis ...	95
Tableau 29: étude des effets des probiotiques sur les infections à Neisseria gonorrhoeae	96
Tableau 30: principaux produits d’hygiène intime disponibles en pharmacie (réalisé à partir de www.eurekasanté.fr)	98

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 [1]. 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.

De tels rapports quantitatifs nous obligent à envisager la notion de dépendance métabolique du corps humain et de sa santé voire même de symbiose vis-à-vis de ce microbiote.

Les aspects gastro-intestinal, dermatologique et bucco-dentaire ayant été largement traités et exploités dans la littérature, j'ai choisi de développer un aspect moins connu de l'utilisation des probiotiques : la thérapeutique urogénitale.

En effet, les pathologies urogénitales font partie des premiers motifs de consultation en médecine générale ou directement au comptoir du pharmacien officinal et induisent une morbidité et un coût élevé pour notre système de santé.

Les statistiques estiment qu'une femme sur trois en âge de procréer connaîtra au moins un épisode de bactériose vaginale au cours de sa vie et une sur deux connaîtra une infection urinaire (récurrente pour la moitié d'entre elles). Les mycoses gynécologiques concerneront quant à elles 70 à 75% des femmes avec chronicité pour 40 à 50% d'entre elles.[2-5]

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.

D'autre part si les antibiotiques restent encore efficaces à ce jour, le développement des résistances pourrait être un problème dans le futur. L'utilisation des probiotiques en préventif comme en curatif pourrait alors se révéler être une piste valable dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Considérant les connaissances et recherches actuelles, il est important d'évaluer l'intérêt que peut présenter l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale.

Pour ce faire, nous considèreront d'abord la flore urogénitale physiologique afin de comprendre son influence sur notre santé et vis-à-vis des nombreuses pathologies, considérées dans un second temps.

Nous nous intéresserons finalement aux probiotiques dans leur conception et leur action pour la protection de notre métabolisme.

PREMIERE PARTIE : LA FLORE UROGENITALE

PHYSIOLOGIQUE

I Aspect historique

La découverte de l'existence des microorganismes composant notre flore date de 1683 par l'inventeur du microscope Antonie Van Leeuwenhoek quand il a observé l'existence de « petits animaux » mobiles dans un prélèvement de sa propre plaque dentaire mélangé à une phase liquide [4].

Concernant la flore urogénitale et son lien avec notre santé, il faudra attendre la fin du 19^{ème} siècle avec les interrogations des praticiens obstétriques de l'époque concernant l'origine des sepsis puerpéraux chez les femmes enceintes [6]. En 1887, deux hypothèses se font alors concurrence. La contamination nosocomiale par les manipulations des médecins et sages-femmes sera la conclusion atteinte par Gönner. Il observe en effet la présence de flore pyogène (streptocoques et staphylocoques) au niveau des sécrétions vaginales ainsi que d'une multitude d'autres organismes mais sans parvenir à les mettre en culture. L'auto-contamination est l'hypothèse défendue par Döderlein. Tout comme son confrère, il constate la présence des mêmes éléments pyogènes dans les sécrétions vaginales mais il note en plus la stérilité de prélèvements utérins incohérente avec une contamination survenue pendant l'accouchement.

Cette investigation conduira ce dernier à la description et à la publication en 1892 d'une monographie dans laquelle il décrira le bacille de Döderlein renommé en 1928 *Lactobacillus acidophilus*. Il sera le premier à évoquer le lien entre la présence de ces bacilles, leur production acide et l'absence de pathogènes au niveau vaginal.

Le développement des techniques de cultures et d'analyses biologiques permettra de déterminer au cours du 20^{ème} siècle que la flore de Döderlein présente à la surface de la muqueuse vaginale est en fait composée de différentes espèces de microorganismes tels que différentes souches de lactobacilles, d'autres bactéries GRAM positives, des streptocoques et staphylocoques (pathogènes et non pathogènes) ainsi que des bactéries GRAM négatives. Ces nouvelles techniques, dont la culture anaérobie, permettront d'identifier et d'affiner la compréhension des mécanismes permettant la protection du milieu urogénital.

Avec le développement des études du génome à partir des années 1960 et le développement des techniques d'analyses génétiques au cours des vingt dernières années, de gigantesques avancées concernant la mise en évidence, l'identification et l'étude de nos flores ont été réalisées au travers des techniques d'amplification (Polymerase Chain Reaction ou PCR, clonage...), de criblage (électrophorèses) et de séquençage .

II La flore urogénitale physiologique

II.A Anatomie urogénitale

II.A.1 Généralités

L'appareil urogénital se compose de deux parties, l'une urinaire et l'autre reproductrice, qui partagent une origine embryonnaire commune et une localisation rétro-péritonéale et pelvienne.

L'appareil urinaire est constitué de deux organes excréteurs, les reins, de deux conduits excréteurs internes, les uretères, d'un réservoir, la vessie et d'un conduit excréteur externe, l'urètre.

L'appareil génital est différent chez l'homme et la femme. Il est soit interne, soit externe. Chez l'homme, il est composé de deux glandes génitales, les testicules, des voies spermatiques (les épидидymes, les conduits déférents, les glandes séminales, les conduits éjaculateurs), d'une glande prostatique, du pénis et du scrotum.

Chez la femme, il est composé de deux glandes génitales (les ovaires), de deux conduits excréteurs (les trompes), de l'utérus qui est un organe creux destiné à recueillir l'ovule fécondé, du vagin et de la vulve. (Figure 1)

II.A.2 L'appareil urinaire

II.A.2.a Aspect anatomique [7]

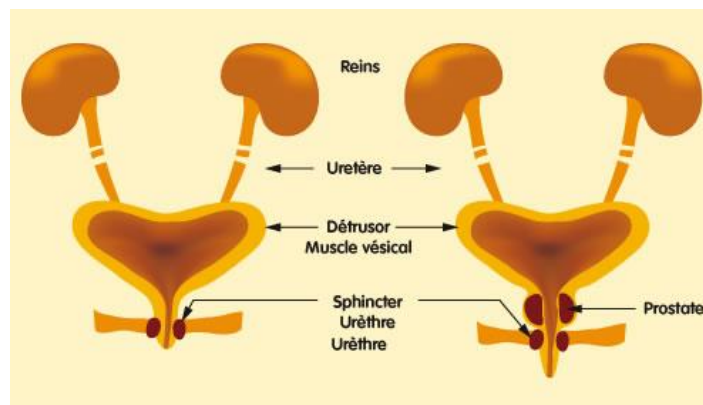


Figure 1 : les appareils urinaires féminin et masculin[7]

II.A.2.a.i Les reins

Ce sont les organes sécréteurs de l'urine, permettent le maintien de l'homéostasie, l'élimination de déchets toxiques (urée, créatinine), mais sont aussi des organes sécréteurs d'hormones (rénine, érythropoïétine).

Ils sont pairs et situés dans les fosses lombaires, régions rétropéritonéales latérales et contenus dans les loges rénales formées par le fascia rénal. Le rein droit est situé plus bas que le gauche de la hauteur d'une demi-vertèbre. Ils ont la forme de haricots et sont recouverts d'une

capsule fibreuse adhérente au parenchyme divisé en zone corticale et médullaire qui contient les pyramides rénales et les colonnes (extension de la zone corticale vers l'intérieur du rein). Au hile du rein se situe une cavité, le pelvis rénal, formée de l'union des calices majeurs (au nombre de 3, supérieur, moyen et inférieur), eux-mêmes formés de l'union des calices mineurs (au nombre de 12 à 18). Chacun draine ainsi une pyramide au niveau d'une papille, lieu d'abouchement des canaux excréteurs du parenchyme rénal. Le pelvis rénal a une forme d'entonnoir aplati et se poursuit par l'uretère lombal au niveau de la jonction pyélo-urétérale.

II.A.2.a.ii Les uretères

Ce sont des conduits musculo-membraneux qui conduisent l'urine des pelvis rénaux à la vessie. Ils présentent trois portions :

- La première portion est lombo-iliaque. Elle naît au niveau de la deuxième vertèbre lombaire et descend vers le pelvis en traversant la région rétro-péritonéale latérale en se projetant au niveau des sommets des processus transverses des vertèbres.
- La deuxième portion est pelvienne. Elle présente une première partie pariétale où l'uretère est plaqué contre les muscles de la paroi pelvienne interne, puis une seconde viscérale dirigée horizontalement vers l'avant et croisant le plexus hypogastrique inférieur à l'origine de l'innervation des organes pelviens. Les rapports diffèrent alors chez l'homme et chez la femme.
- La troisième portion est intra-murale. Elle comprend les derniers centimètres qui traversent la paroi vésicale en « chicane » ce qui forme une valve anti-reflux empêchant les urines de remonter vers les uretères. Les uretères s'abouchent alors dans la vessie par les méats urétéraux.

II.A.2.a.iii La vessie

Elle est le réservoir de l'urine entre les mictions. Lorsqu'elle est vide, elle a une forme pyramidale dont seule la face supérieure (dôme ou calotte) est mobile et permet la continence. Lorsqu'elle est pleine, elle a une forme globuleuse et se projette au-dessus du pubis. Elle peut contenir 350 à 500 millilitres chez l'adulte. Sa structure comprend une muqueuse urothéliale, un muscle lisse appelé détrusor et un adventice. Elle se poursuit en bas par l'urètre au niveau du col où est situé le muscle sphincter lisse. Sur la face interne, le trigone vésical est situé entre les méats urétéraux et le méat urétral.

II.A.2.a.iv L'urètre

L'urètre est le conduit musculo-membraneux qui fait communiquer la vessie et l'extérieur.

Chez l'homme, il est uro-génital et long. Il comprend trois parties : prostatique où il est entouré de la prostate, membranacée où il est entouré du sphincter strié et spongieuse où il est situé dans le corps spongieux. Cette dernière partie est mobile.

Chez la femme, il est uniquement urinaire et court. Il est alors vertical, traverse le périnée pour s'aboucher à la vulve.

L'urètre est la seule partie du tractus urogénital à présenter une colonisation bactérienne par la flore vaginale. Toute présence microbienne dans les éléments en aval relève de la pathologie et constitue donc une infection urinaire.

II.A.2.b Aspect histologique

Les voies urinaires sont tapissées par un épithélium de surface transitoire appelé urothélium. C'est une structure pseudo-stratifiée et transitoire constituée de plusieurs types cellulaires (Figure 2)

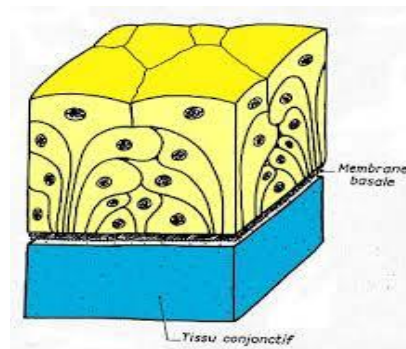


Figure 2 : Représentation schématique de l'urothélium[8]

- Les cellules basales petites, cubiques posées sur la lame basale
- Les cellules intermédiaires ou cellules en raquette effilées en basal au contact de la lame et ovales dans leurs parties apicales
- Les cellules superficielles en parapluie recouvrant les autres cellules, grandes et pouvant présenter deux noyaux.

Ces dernières ont une particularité de structure leur permettant de supporter la plasticité morphologique des voies urinaires : leur membrane est composée d'un feuillet externe quasiment deux fois plus épais que le feuillet interne et contenant des structures protéiques, les uroplakines (Ia, Ib, II et III). Cette configuration permet à ces cellules de supporter l'étirement tout en conservant la stabilité de ses membranes.

Sous l'épithélium se trouve le chorion servant de soutien par la présence de tissu conjonctif élastique, de source nutritive par l'apport sanguin et lymphatique et contenant également des structures nerveuses. Encore en dessous, la musculature assure les mouvements d'étirement ou de contraction des structures urinaires par ses fibres de muscles lisses séparées de travées conjonctives. En dernier se trouve l'adventice composée de vaisseaux sanguins, de nerfs et de tissu adipeux.

Cette configuration se retrouve à tous les niveaux des voies urinaires avec quelques variations selon les portions considérées. Par exemple au niveau de la vessie, l'urothélium est plus épais (6 à 8 couches de cellules) et peut présenter des plis selon l'état de réplétion de l'organe. A partir de l'urètre, l'urothélium perd sa configuration pseudostratifiée pour devenir prismatique jusqu'au méat urinaire à partir duquel il devient un épithélium Malpighien.

II.A.3 L'appareil génital

Les pathologies concernant la perturbation de notre flore étant très majoritairement féminines, nous ne traiterons ici que de l'appareil génital féminin. (Figure 3)

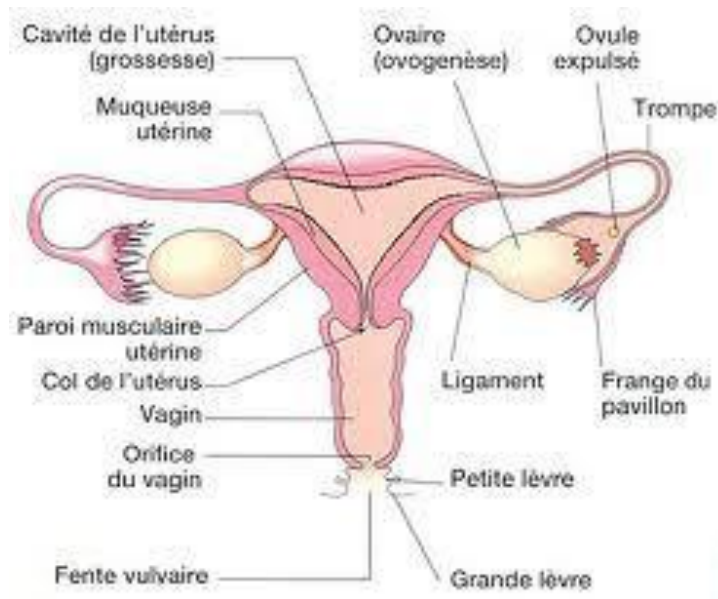


Figure 3 : l'appareil génital féminin[9]

II.A.3.a Aspect anatomique

II.A.3.a.i Les ovaires

Les ovaires sont les glandes sexuelles féminines primaires qui produisent les ovules et des hormones sexuelles. Ils sont pairs et symétriques. Ils ont une forme ovoïde et sont situés dans la cavité péritonéale contre la paroi pelvienne. Son parenchyme est divisé en médulla riche en vaisseaux et en cortex où mûrissent les follicules ovariens. Il est maintenu par des replis péritonéaux qui forment le mésovarium, mais le péritoine ne recouvre pas la totalité de l'ovaire, de sorte qu'une partie est intrapéritonéale.

II.A.3.a.ii Les trompes de Fallope

Ce sont des conduits musculo-membraneux qui relient les ovaires à l'utérus. Ils sont constitués en quatre segments. La portion utérine ou myométrale est située dans l'épaisseur du myomètre et communique avec la cavité utérine par l'orifice utérin. L'isthme est rigide et se poursuit par l'ampoule tubaire, souple et flexible. L'infundibulum s'ouvre dans la cavité péritonéale en regard de l'ovaire et son extrémité se poursuit par les franges tubaires au contact de l'ovaire.

II.A.3.a.iii L'utérus

L'utérus est l'organe de la gestation. Il comprend trois parties : Le corps situé juste sous l'abouchement des trompes, l'isthme (zone rétrécie entre le corps et le col qui s'allonge avec la grossesse) et le col de forme conique fixé au vagin.

La structure utérine est constituée d'une séreuse ou périmétrium, d'une musculuse ou myomètre et d'une muqueuse ou endomètre. C'est un organe creux. L'utérus est situé au-dessus de la vessie et du vagin auquel il est connecté par le col.

II.A.3.a.iv Le col de l'utérus

Il s'agit du tiers inférieur de l'utérus. De forme cylindrique, il se compose de trois parties : le col termine l'utérus qui s'unit au vagin au niveau de sa partie intermédiaire à l'extérieur de en formant un cul-de-sac appelé fornix postérieur. Il se termine par une partie intravaginale dont la muqueuse extérieure est appelée exocol et la muqueuse intérieure endocol.

II.A.3.a.v Le vagin

Le vagin est l'organe interne de la copulation. C'est un conduit musculo-membraneux élastique. Il s'insère sur le col de l'utérus formant des culs-de-sac utéro-vaginaux ou fornix vaginal. Son extrémité inférieure s'abouche dans le périnée au niveau de la vulve.

II.A.3.a.vi La vulve

La vulve est l'organe externe de la copulation. Elle a une forme de fente ovoïde antéropostérieure limitée latéralement par les grandes et les petites lèvres et antérieurement par le clitoris. Elle est fermée en arrière par la fourchette. Entre les petites lèvres se situe le canal vulvaire formant le vestibule vaginal, en avant se situe le vestibule urétral et en profondeur, la vulve est en rapport avec les corps érectiles féminin qui s'unissent au clitoris.

II.A.3.b Aspect histologique

II.A.3.b.i Les trompes de Fallope

Elles sont constituées de trois tuniques :

- La muqueuse est en contact avec la lumière de la trompe, c'est un épithélium cylindrique constitué de cellules ciliées plus nombreuses et plus actives en période ovulatoire, et de cellules sécrétrices de forme effilées faisant saillie dans la lumière des trompes. Il est repose sur une lame basale soutenue par un chorion de tissu conjonctif.
- La musculuse se compose de deux couches de cellules musculaires lisses, l'une interne et cylindrique, l'autre externe et longitudinale. Elle est épaisse au niveau de l'isthme et sa vascularisation abondante permet par dilatation au moment du cycle d'augmenter le péristaltisme tubulaire.
- La séreuse est un tissu conjonctif au contact de la séreuse péritonéale.

II.A.3.b.ii L'utérus

Sa muqueuse est appelée endomètre, elle est constituée d'un épithélium cylindrique composé de cellules ciliées et glandulaires. Plus épaisse au niveau du corps utérin, elle s'affine au niveau de l'isthme tubulaire. Sa structure varie au cours du cycle menstruel avec une alternance de destruction suivie d'une nouvelle prolifération cellulaire.

Sa musculuse est la tunique utérine la plus volumineuse et se compose de fibres musculaires lisses réparties en couches interne et externe longitudinales et une moyenne plus épaisse plexiforme. En dessous se trouve une séreuse de tissu conjonctif au contact du péritoine.

II.A.3.b.iii Le col de l'utérus

Sa muqueuse comporte un épithélium cylindrique formé essentiellement de cellules productrices de mucus et de glandes tubulo-alvéolaires productrices de glaire cervicale au

niveau de l'endocol. La quantité et la qualité des sécrétions constituées de protéoglycanes varient au cours du cycle menstruel : elles sont abondantes à l'approche de l'ovulation avec une consistance filante (structure relâchée) et un pH élevé (7 à 8,5). Cet état est favorable au passage des spermatozoïdes et persiste du 10^{ème} au 14^{ème} jour du cycle. Après l'ovulation, sous l'action de la progestérone, le mucus est peu abondant et visqueux et présente un maillage serré hostile à son franchissement.

L'exocol présente un épithélium pavimenteux stratifié.

II.A.3.b.iv Le vagin

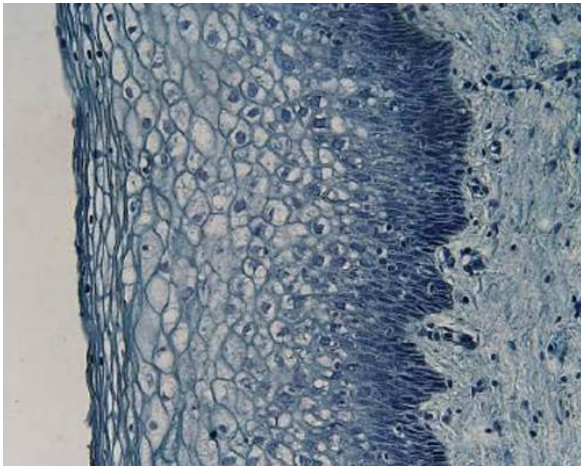


Figure 4 : muqueuse vaginale

Sa muqueuse présente un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé semblable à celui de l'exocol. Il peut être décrit en plusieurs couches correspondant à différents degrés de différenciation cellulaire, la plus profonde étant constituée par la couche basale ou germinative constituée de cellules arrondies à noyaux volumineux. Suit la couche parabasale constituée d'éléments plus gros, elle-même est suivie de la couche intermédiaire caractérisée par ses composants de forme ovale. Enfin, les cellules superficielles aplaties à noyaux pycnotiques sont en contact avec la cavité vaginale (Figure 4). La concentration en glycogène dans les cytoplasmes augmente de la zone interne vers l'extérieur.

Sous l'influence de la sécrétion d'œstrogènes, il y a multiplication des cellules basales causant un épaississement de la paroi vaginale qui se desquamera au cours de la phase oestro-progestative. La phase proliférative voit aussi une augmentation de la synthèse de glycérol au niveau des cellules vaginales.

II.A.3.b.v La vulve

Elle fait la transition entre la muqueuse vaginale et la peau. Le vestibule et les petites lèvres présentent un épithélium pavimenteux stratifié qui est moins épais que celui du vagin. Les grandes lèvres ont une structure cutanée avec une kératinisation, des follicules pileux et des glandes sudoripares.

II.B Le Human Microbiome Project (HMP)

Partant de ces dernières techniques biotechnologiques, les recherches concernant les microorganismes nous entourant se sont faites de plus en plus nombreuses. Elles ont notamment mis en évidence l'impossibilité de mise en culture de 20 à 60% de notre microbiome c'est-à-dire de tous les microorganismes pathogènes ou pas présents au contact de notre corps [10].

En 2001, l'institut américain de la santé (NIH) a lancé un projet de recherche à grande échelle sur cinq ans basé sur une analyse métagénomique des échantillons prélevés, c'est-à-dire un séquençage et une comparaison aux bases de données existantes de tous les ADN présents dans le prélèvement. Les objectifs définis pour cette étude sont :

- de caractériser le microbiote humain en exécutant des prélèvements chez au moins 250 volontaires « normaux » (sans symptômes pathologiques) au niveau des cavités buccales, nasales, de la peau, du tractus gastro-intestinal et de la zone urogénitale.
- d'étudier les effets des changements de notre microbiote sur notre santé en étudiant plusieurs pathologies (obésité, Crohn,...), l'objectif final du HMP étant de montrer la possibilité d'influencer la santé humaine par la manipulation de notre flore.
- de constituer un centre de référence de données génétiques ainsi que des protocoles technologiques d'analyse permettant la multiplication des recherches et une large diffusion des informations et découvertes parmi la communauté scientifique.

L'analyse s'appuie sur l'étude métagénomique d'échantillons. Une phase initiale a été lancée entre 2007 et 2009 avec pour objectifs :

- de mettre en place le protocole de recrutement des volontaires et de prélèvement des échantillons sur les différents sites cibles
- de séquencer 500 nouvelles références de génome bactérien
- de pratiquer des analyses d'ARNr 16S des différents sites cibles (bouche, tube digestif, nez, peau, vagin) [11,12] à partir des échantillons prélevés sur les différentes parties anatomiques de chaque zone.

Pour cela quatre centres d'analyse ont participé à cette première phase : le Baylor college of medicine, l'université de médecine de Washington, le Broad institue et le J. Craig Venter institue. En 2009, environ 500 souches bactériennes avaient été recensées dont 375 déposées à la base de données Genbank.

Lors de la seconde phase, le référencement de nouvelles espèces bactériennes s'est poursuivi sur le même panel d'étude de 250 volontaires, l'échantillonnage étant toujours pratiqué sur les mêmes zones. Cependant l'analyse s'est étendue aux espèces virales et eucaryotes présentes dans le microbiote. Une autre partie de cette seconde phase était constituée par le HMP Demonstration Project qui visait à mettre en évidence une corrélation entre les changements du microbiote et la santé humaine par le développement de projets de recherche utilisant les méta-analyses génomiques. A l'issue de chaque projet et dans l'esprit de diffusion et de constitution d'une base de données sur notre microbiote, les résultats sont regroupés sur le Data Analysis and Coordination center (DACC) accessible par internet. [11]

A la suite du HMP américain, d'autres projets similaires se sont développés partout dans le monde comme par exemple le European MetaHit project ou le Canadian Microbiome Initiative. Afin d'optimiser les recherches au niveau international, l'International Human Microbiome Consortium (IHMC) s'est créée en 2008 et permet une coordination des études par la mise en réseaux des ressources, des connaissances et des résultats au niveau mondial.

II.C Biodiversité de la flore urogénitale

Au-delà des projets similaires en ayant découlés, le HMP a servi de base par sa grande quantité de données génétiques à de nombreuses autres études visant à identifier les flores de l'organisme humain et d'en comprendre les corrélations avec notre santé.

II.C.1 Diversité temporelle

II.C.1.a Evolution du microbiote vaginal au cours de la vie

La formation des flores de l'organisme se produit majoritairement peu après la naissance par le passage vaginal de l'enfant lors d'un accouchement par voie basse mais également par contact cutané de l'enfant avec ses proches et son environnement, constituant un ensemble de flores relativement homogènes qui se différencieront au cours des semaines et mois suivants [13,14]. Dans les quatre premières semaines de vie, l'enfant bénéficie transitoirement des taux d'estrogènes de la mère se traduisant au niveau vaginal par un pH abaissé qui tendra à se neutraliser et persistera dans cet état tout au long de l'enfance jusqu'à la puberté. A la naissance, le domaine urogénital est quasiment stérile puis se rapproche de la composition intestinale au cours des jours et semaines suivantes.

Entre 8 et 13 ans en moyenne, la maturation des organes sexuels entraîne une augmentation des taux d'estrogènes dans les tissus vaginaux induisant l'épaississement de l'épithélium et la production intracellulaire de glycogène. Ce changement des conditions environnementales entraîne une sélection au niveau des microorganismes urogénitaux, favorisant ceux capables de métaboliser cette source nutritive en acide lactique, participant ainsi à l'acidification du milieu avec l'établissement du pH entre 4 et 4,5 constituant une barrière défensive inhibitrice de la croissance de pathogènes. De façon générale, la flore adulte est considérée comme acquise dès l'adolescence (autour de 14 ans). Elle persiste au cours de la vie jusqu'à la ménopause où la chute de la production d'estrogène modifie de nouveau nos populations de microorganismes avec l'affinement de l'épithélium vaginal, la diminution des taux de glycogène et des sécrétions muqueuses. (Figure 5)

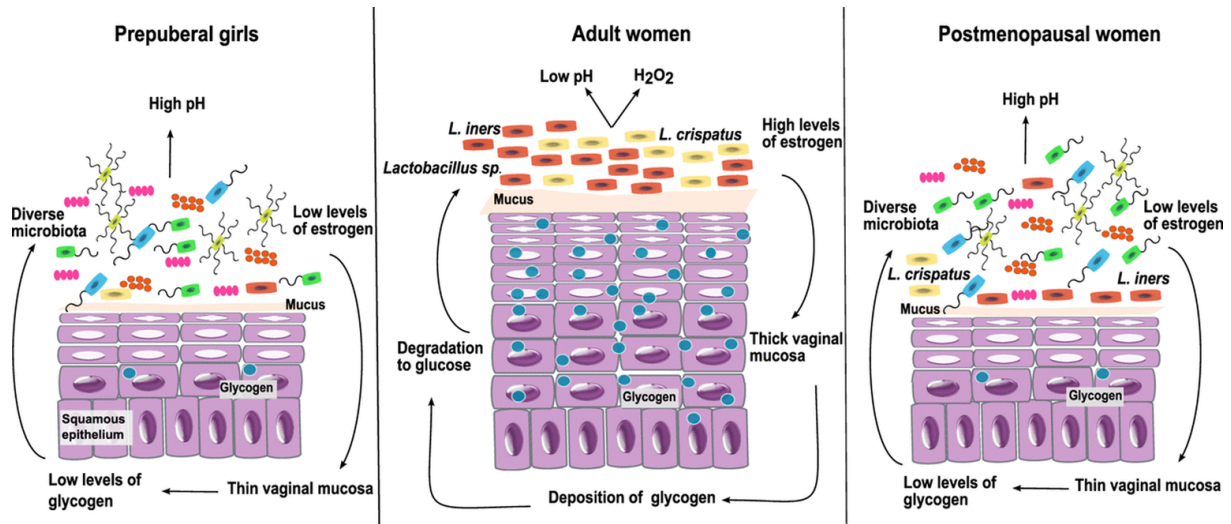


Figure 5: variation de la muqueuse vaginale au cours de la vie [15]

II.C.1.b Influence du cycle génital sur la flore

II.C.1.b.i Généralités sur le cycle menstruel [13,16]

Le cycle féminin débute classiquement par le déclenchement des règles ou menstruations et se constitue de trois phases :

- Les règles sont conventionnellement considérées comme le début du cycle, leur déclenchement correspondant au jour 1. Elles durent en général entre 5 à 7 jours.
- la phase folliculaire correspond à la maturation du follicule ovarien contenant un ovocyte. Parallèlement, les œstrogènes produits par l'ovaire entraînent l'épaississement de la muqueuse vaginale et de l'endomètre utérin.
- La phase lutéale correspond à l'ovulation. Le follicule mature expulse l'ovocyte dans les trompes de Fallope. Il n'en reste alors que le corps jaune producteur de progestérone qui agit en synergie avec l'œstrogène pour maintenir l'endomètre dans un état favorable à la nidation. C'est une période qui dure en moyenne de 13 à 15 jours. A la fin de cette phase, s'il n'y a pas eu de fécondation, le corps jaune se dégrade et la production d'hormones chute entraînant l'élimination de l'endomètre et de l'ovule dans les menstruations.

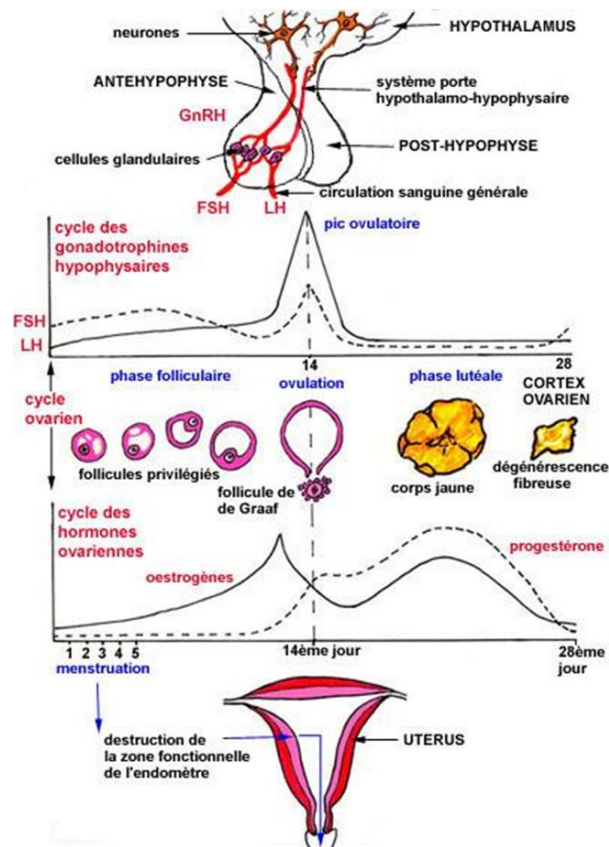


Figure 6 : régulation hormonale du cycle menstruel [17]

Le cycle est régulé au niveau du système nerveux central par la sécrétion de neuromédiateurs hypothalamo-hypophysaires. La GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) sécrétée de façon pulsatile au niveau de l'hypothalamus. Elle descend dans la post-hypophyse par voie sanguine via le système porte hypothalamo-hypophysaire et stimule la production de FSH (hormone folliculostimulante) et de LH (hormone lutéinisante) elles-mêmes agissant sur le cycle menstruel.

La FSH est indispensable au développement et à la maturation d'un follicule par cycle, le follicule de Graaf. La décharge plasmatique d'une forte dose de FSH et surtout de LH déclenche l'ovulation qui a lieu 36 heures après le début de la montée du pic ovulatoire.

La LH permet la formation du corps jaune lors de la 2^{ème} phase du cycle et est responsable de la transformation cellulaire des cellules de la granulosa en grandes cellules lutéales (lutéinisation) source de la progestérone.

Pendant la deuxième moitié du cycle précédent, le taux élevé d'œstradiol et de progestérone agissant via l'axe hypothalamo-hypophysaire supprime la production de FSH et de LH par la glande pituitaire. La production d'hormone déclinante à la fin du cycle élimine cette suppression et le taux de FSH augmente.

Les follicules dans les ovaires nécessitent un taux de FSH au-dessous duquel aucune stimulation ne se produit. Initialement les valeurs sont inférieures à ce seuil, mais elles augmentent lentement jusqu'à ce qu'il soit franchi et qu'un groupe de follicules soit stimulé. Plusieurs jours de croissance sont nécessaires avant que les follicules commencent à produire

l'estradiol qui est sécrété dans le flux sanguin et atteignent l'hypothalamus pour fournir le signal indiquant que le seuil a été atteint. Proche de l'ovulation, le follicule dominant produit rapidement des taux croissants d'œstradiol qui suppriment la production de FSH retirant ainsi l'apport nécessaire aux autres follicules (rétrocontrôle négatif).

La chute du taux de FSH provoque aussi un mécanisme de maturation au sein du follicule dominant qui rend celui-ci réceptif à la LH. Le taux élevé d'estradiol active par ailleurs un mécanisme rétroactif positif dans l'hypothalamus qui entraîne une décharge massive de LH par la glande pituitaire. Cette décharge initie la rupture du follicule (ovulation) généralement de 24 à 36 heures après son commencement. La production ovarienne d'estradiol chute brutalement entre l'intervalle séparant le pic de LH et l'ovulation. Après celle-ci, le follicule qui s'est rompu est transformé en corps jaune, et la production de la seconde hormone ovarienne, la progestérone, augmente rapidement en même temps que celle d'estradiol. Cette progestérone provoque le changement brutal dans les caractéristiques de la glaire cervicale. La disparition du corps jaune (aux environs du 26^{ème} jour) du cycle ovarien (en cas de non fécondation) provoque l'arrêt de la synthèse de progestérone et induit la desquamation d'une partie de l'endomètre qui s'étend sur une période de 3 à 5 jours et se caractérise par des saignements.

II.C.1.b.ii Evolution de la flore vaginale au cours du cycle menstruel

Si l'environnement vaginal présente un microbiote peu variable, il subit cependant de par son rôle reproducteur des changements physiques et hormonaux parallèles aux cycles menstruels. Sa flore se trouve elle aussi affectée par ces variations comme le montre la figure 7.

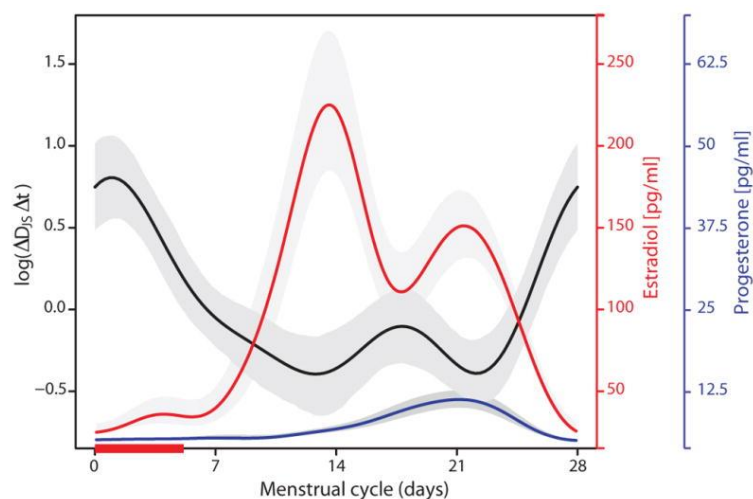


Figure 7 : modélisation de l'évolution du log du taux de variation de Jensen-Shannon au cours du cycle menstruel [18]

Les courbes bleue et rouge sont respectivement l'évolution des taux de progestérone et d'estradiol au cours d'un cycle menstruel. La courbe noire représente la variation parallèle de la diversité des microorganismes au moyen du logarithme de l'index de divergence de Jensen-Shannon qui est une mesure de la déviation d'une communauté donnée par rapport à une constante sur un intervalle de temps donné. La comparaison des pics permet de constater que plus les taux hormonaux sont importants, moins la flore est variée, la période des règles

correspondant à celle de plus forte diversité. Elle est cependant transitoire et si elle représente un intervalle de vulnérabilité, elle ne signifie pas l'apparition de symptômes pathologiques pour autant.

II.C.2 Diversité de composition

L'interprétation des résultats de cette étude métagénomique passe par une exploitation statistique des données récoltées. Leur modélisation utilise des indices et corrélations mathématiques indiquant des rapports statistiques de diversité, c'est-à-dire évaluant la probabilité que deux microorganismes dans un milieu donné aient une proximité génétique significative [19,20]. Les observations du HMP sont présentées dans la figure 5 [12].

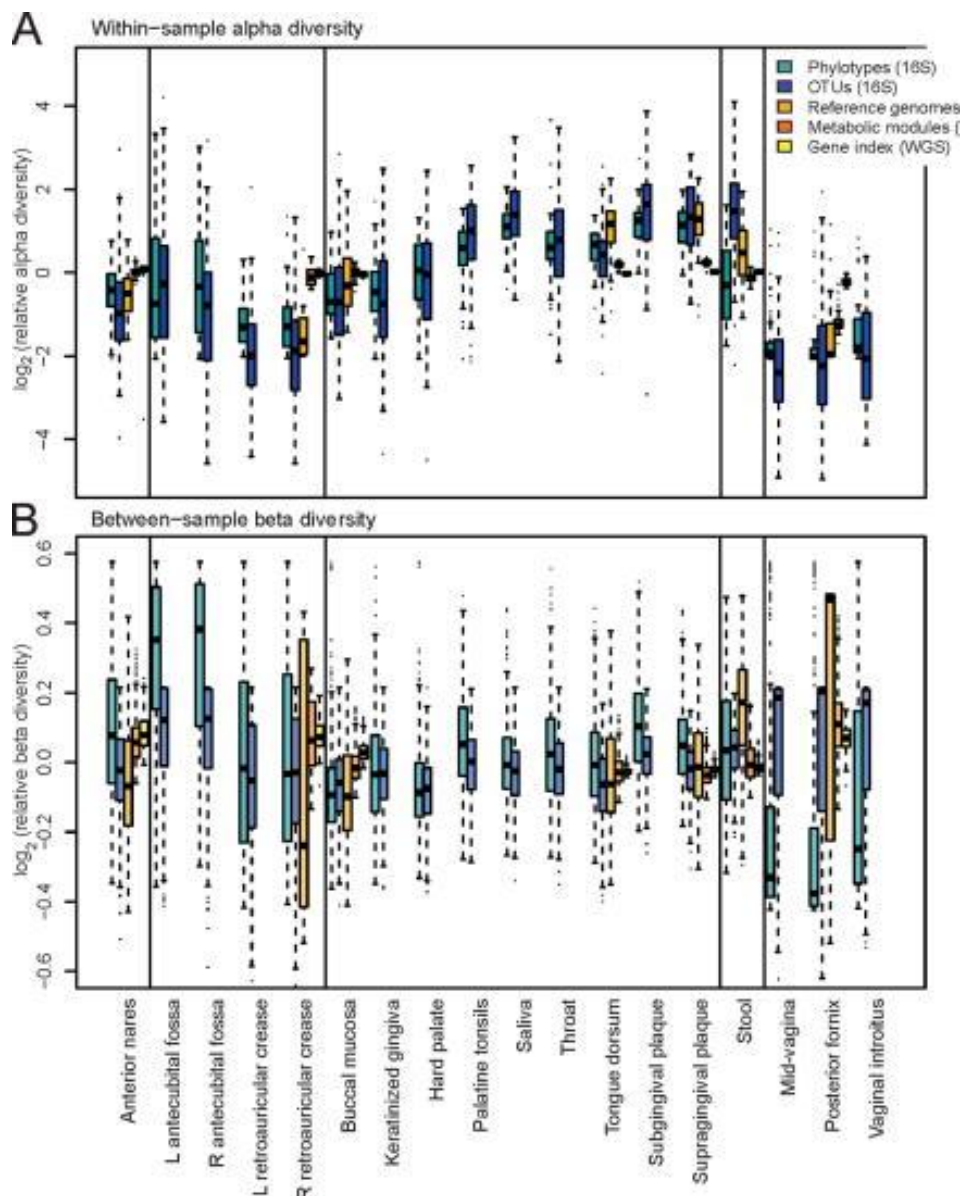


Figure 8 : Diversité microbienne analysée par le human microbiome project [19]

Il s'agit de la représentation logarithmique de la biodiversité des prélèvements entre les individus (A) et entre les échantillons d'une même zone (B). Les auteurs ont utilisé l'indice mathématique de Bray Curtis qui indique les dissimilitudes entre les paramètres étudiés. Pour

la lecture, il faut donc considérer que plus les marqueurs sont bas et étroit, plus les échantillons considérés ont une faible diversité microbiologique.

Ainsi, nous pouvons observer que le domaine urogénital est relativement peu diversifié au niveau des phylotypes présents c'est-à-dire qu'un nombre limité de familles de microorganismes constituent son microbiote alors qu'au contraire la biodiversité entre les échantillons d'un même milieu montre une forte variabilité signifiant l'existence d'un nombre élevé d'espèces différentes ou unités taxonomiques opérationnelles (OTU). (Figure 9)

Si aucun microorganisme n'est universellement spécifique de la flore humaine générale, chaque microbiote est dominé par un type bactérien majoritairement présent.

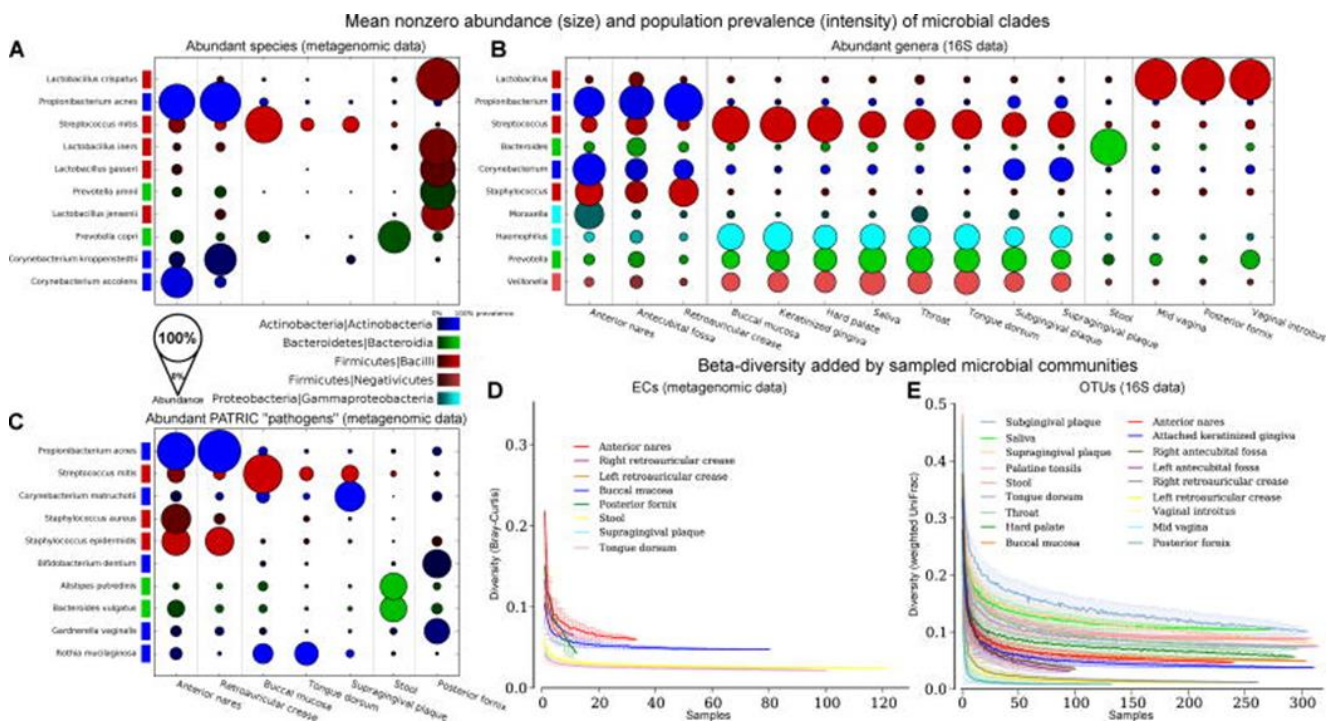


Figure 9 : Espèces bactériennes dominantes dans les microbiotes humains

Ainsi comme figuré dans la figure 8 [5,12,20,21], le genre *Lactobacillus* est retrouvé en grande quantité à tous les niveaux du milieu vaginal mais dénote beaucoup moins dans le reste du corps où d'autres souches prévalent. Il est également à noter que s'il est majoritaire et représente plus de la moitié des populations microbiennes locales, il cohabite (même chez les individus asymptomatiques) avec d'autres bactéries comme *Gardnerella*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Atopobium* ou *Mobiluncus* présentes en proportions habituellement minoritaires bien qu'il existe des cas où leur abondance tend à égaler celle des lactobacilles. Cependant cette dernière situation qui n'est pas systématique, semble être corrélée à l'apparition de symptômes de pathologies urogénitales.

Quatre souches de *Lactobacillus* sont communément reconnues comme constitutive de la flore de Doderlein: *L. Crispatus*, *L. Jensenii*, *L. Gasseri* et *L. Iners*, la dernière ayant été la plus récemment décrite grâce aux techniques d'analyse de l'ARNr 16S [5,20,22–25]. Ce sont les espèces les plus abondantes dans la flore vaginale. Elles sont retrouvées chez toutes les populations malgré l'existence une diversité quantitative selon les individus. En effet plusieurs études montrent des variations dans les proportions microbiologiques entre les

femmes de types ethniques différents [21,24,25]. Dans les diagrammes suivants sont représentés les pourcentages de populations dominées par *L. crispatus* (I), *gasseri* (II), *iners* (III), *jensenii* (V), et par d'autres bactéries (IV). (Figure 10)

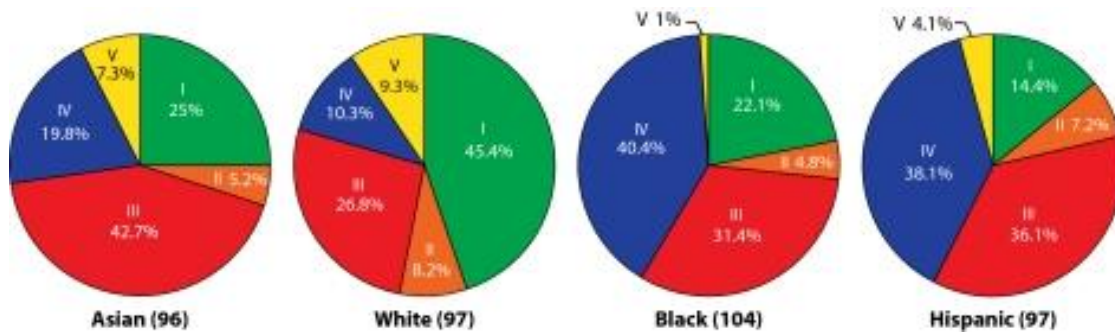


Figure 10 : Espèces bactériennes dominantes dans les microbiotes humains[21]

Nous pouvons constater d'une façon générale que les lactobacilles sont majoritaires dans tous les cas mais il existe une plus grande variabilité microbiologique dans les populations noires et hispaniques. Cette observation associée aux résultats de certaines études concernant les relations entre les perturbations de la flore urogénitale et l'occurrence de bactérioses vaginales et autres infections laissent à penser que ces dernières seront plus facilement susceptibles de manifester des troubles urogénitaux au cours de leur vie [14,16]. Une certaine réserve sur cette tendance est à émettre dans la mesure où les sujets des populations concernées vivaient toutes sur le continent américain. Pour pouvoir élargir cette affirmation, il serait nécessaire de comparer les flores à risque avec des analyses similaires dans d'autres environnements comme le continent africain et l'Amérique latine par exemple.

II.C.3 Dynamisme du microbiote vaginal

II.C.3.a Dynamisme temporel

En considérant les ensembles microbiens présent le plus souvent dans les études de populations il est possible de décrire différents groupes qualifiés de types d'états communautaires ou CST (Community State Types). Ils permettent par leur observation sur une certaine période de visualiser les variations se produisant dans le microbiote vaginal au cours du temps. [18,26,27]

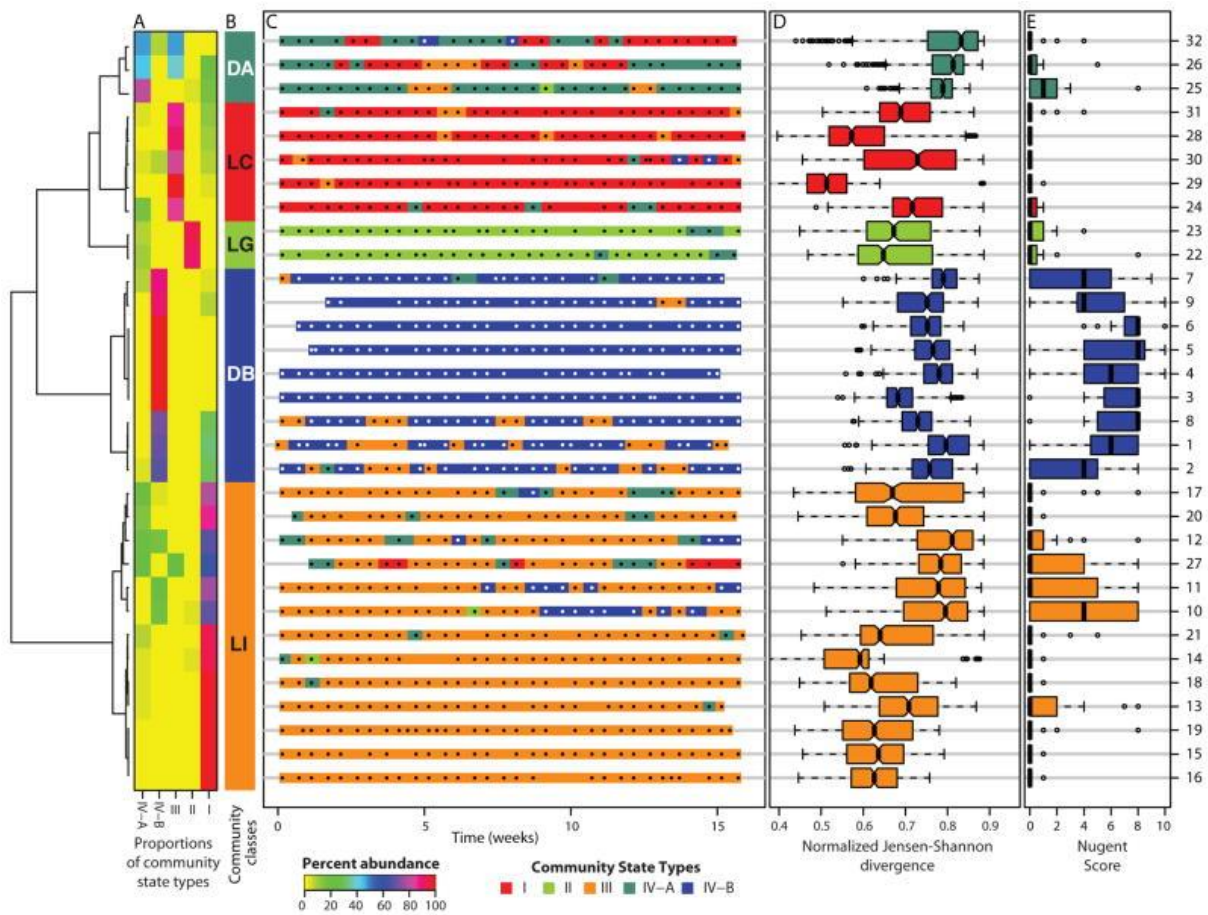


Figure 11 : Dynamique des types d'états communautaires chez 32 femmes pendant 16 semaines[26]

Les CST I, II et III sont respectivement dominées par *Lactobacillus crispatus*(LC), *gasseri* (LG) et *iners* (LI). Le CST IV-A (DA) correspond à un groupe contenant une part modeste de lactobacilles et d'autres communautés anaérobies strictes avec un faible score de Nugent (outil diagnostique cf. page 33). La catégorie IV-B (DB) est constituée d'une majorité d'*Atopobium* associé à d'autres bactéries, présente une forte diversité et un score de Nugent élevé.

La figure 10 met en évidence les changements se produisant dans le microbiote vaginal au cours des 16 semaines étudiées. Il ne semble pas exister de constante ou de variation type, chaque transition microbiologique est individuelle. Ces changements sont plus ou moins importants selon le groupe communautaire considéré et les transferts ne semblent pas se produire entre tous : pas de permutation entre LG et LI ou LC et LG par exemple. Cela met en évidence l'existence de différences de stabilité entre les groupes.

Dans cette même étude, la mise en parallèle des permutations de certaines communautés avec les périodes de menstruations a montré une corrélation.

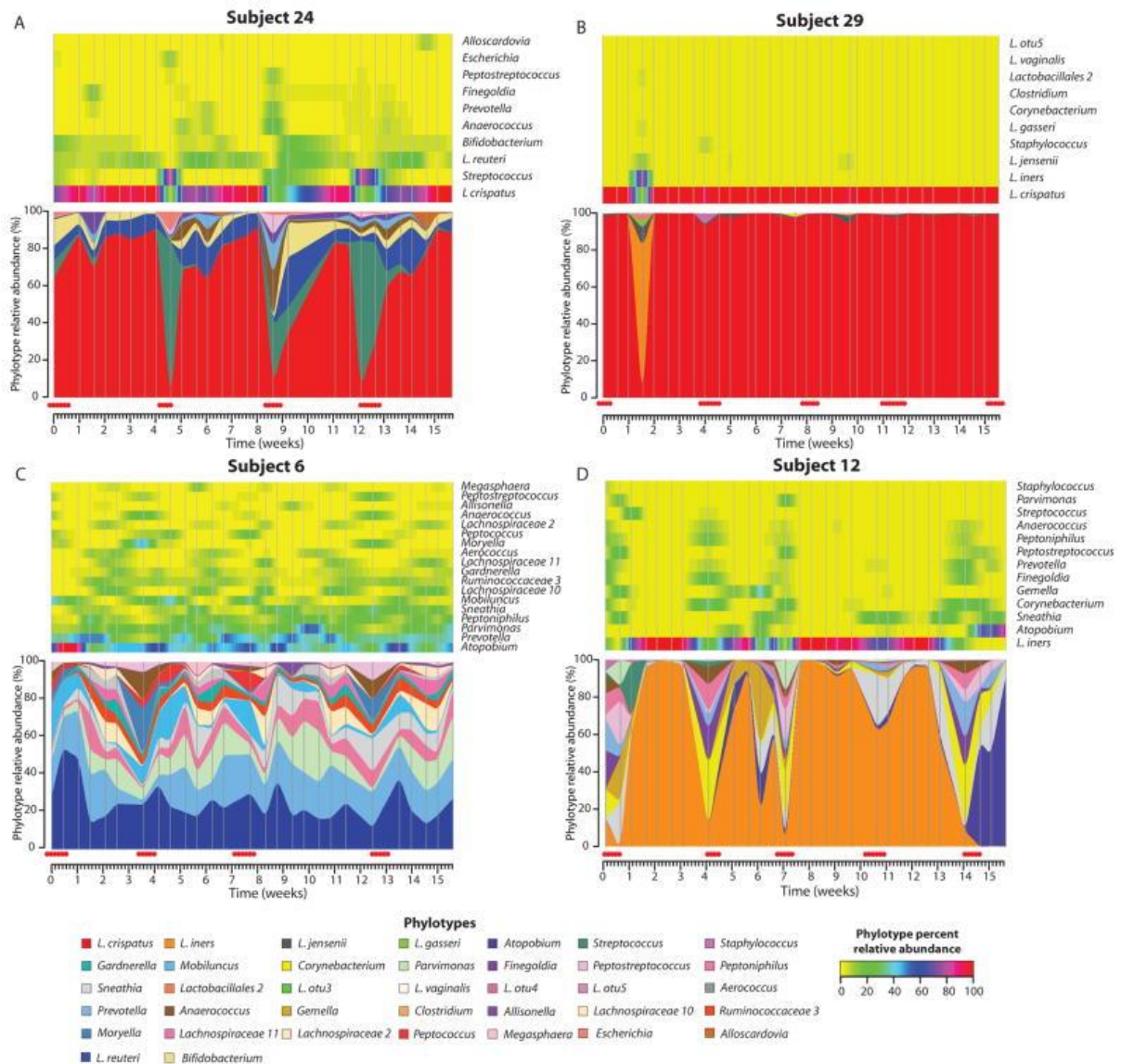


Figure 12 : variation des phylotypes dominants pendant 16 semaines [26]

La figure ci-dessus montre clairement la différence de diversité entre les populations LC (sujets 24 et 29), LI (sujet 12) et DB (sujet 6). Le graphique A (dominé par *L. crispatus*) présente une régularité de permutation synchronisée avec le cycle menstruel. Ce n'est plus aussi évident dans les autres populations : la prédominance de multiples souches de lactobacilles en B semble atténuer les changements. Chez le sujet 12, les pics sont toujours visibles et restent à peu de chose près parallèles aux menstruations avec une augmentation de la diversité microbienne alors que la figure C présente un microbiote très varié pour lequel la corrélation hormonale n'est plus nettement visible.

Malgré des changements de composition pouvant être importants selon les communautés, ce sont des phénomènes transitoires variables selon les communautés considérées et suivis d'un retour aux populations initiales.

II.C.3.b Stabilité microbiologique

Dans la figure 10, il faut noter qu'une communauté présentant une diversité élevée ne devient pas forcément pathologique. En effet il y a correspondance dans les graphiques D et C entre de fortes variabilités et des scores de Nugent faibles donc non pathologiques, la situation inverse est également visible dans les groupes DB et certains LI. C'est en apparence un paradoxe qui s'explique en fait non pas sur le plan quantitatif mais qualitatif.

Les communautés concernées présentent des points communs entre leurs membres qui sont sélectionnés en fonction de leur capacité à s'adapter aux conditions environnementales imposées soit par l'hôte (milieu vaginal anaérobie) soit par les espèces majoritairement présentes et qui servent de « drivers » pour le reste du groupe, par exemple les bactéries productrices d'acide lactique et qui y sont tolérantes. L'ensemble du groupe restant à l'issue de ce criblage présente des propriétés protectrices similaires, c'est une redondance fonctionnelle.[14,26,28]

Il s'agit d'un paramètre qui augmente la résistance du groupe vis-à-vis d'éventuelles agressions, c'est-à-dire sa capacité à résister aux changements (donc à de nouvelles contraintes) sans subir de dommage. Un autre paramètre est la résilience qui est le pouvoir de retour à un état stable si ce n'est son état initial à la suite d'une perturbation. Ce sont deux aspects qui contribuent à la stabilité du microbiote : plus ils sont bas, moins les communautés seront capables de résister à la colonisation du milieu par des espèces étrangères et opportunistes.

L'impact des perturbations sera directement dépendant de la nature des communautés présentes.

II.D Rôle protecteur de la flore urogénitale

Les lactobacilles sont partie intégrante de l'équilibre du microbiote vaginal et les variations qualitatives et quantitatives dans leur population ont des répercussions sur la stabilité et l'homéostasie du milieu. Ils sont la première ligne de défense urogénitale et exerce leur activité protectrice en coopération avec leur environnement par la production de substances et par leurs rapports avec les autres espèces microbiennes présentes.

II.D.1 Rapports entre la flore et le glycogène vaginal

Les lactobacilles sont présents sur la surface de l'épithélium vaginal maintenu hydraté par un mélange de transudats provenant de ce dernier et de sécrétions provenant de glandes sécrétrices situées dans le tractus génital supérieur (endomètre et trompes de Fallope) et de la muqueuse cervicale. Au final, les sécrétions vaginales sont un mélange en proportions variables d'ions, de peptides, de glycoprotéines, d'acides lactique et acétique, de glycérol, d'urée et de glycogène. Elles contiennent également des cellules exfoliées dont celles provenant de la couche superficielle de l'épithélium vaginal en période de stimulation oestrogénique.[29] Au cours de la dégradation de ces dernières, le glycogène contenu dans leur cytoplasme est libéré et rendu accessible pour sa métabolisation.

Cependant, un grand nombre de lactobacilles ne sont pas capables de métaboliser directement ce substrat [30,31].

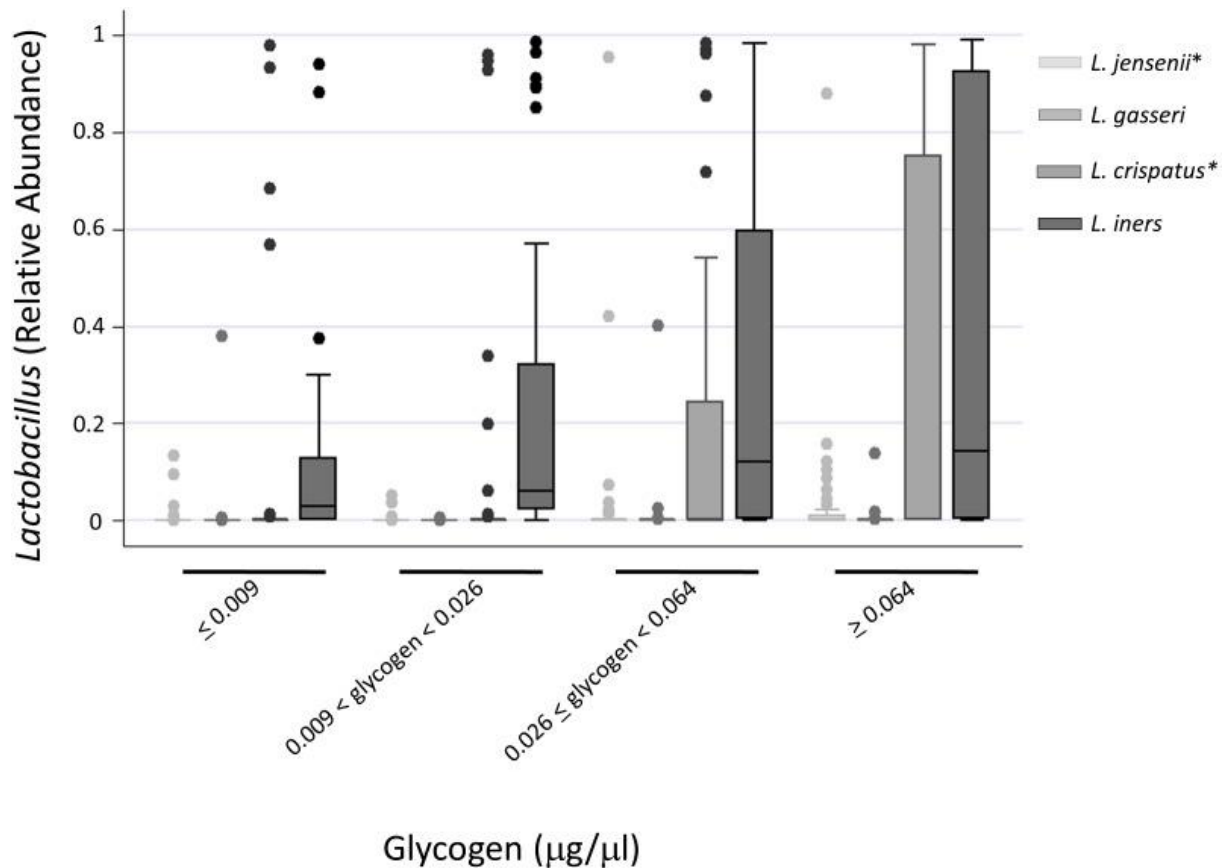


Figure 13 abondance relative en espèces de lactobacilles en fonction des concentrations en glycogène[31]

Le graphique ci-dessus témoigne de l'inégalité dans les capacités métabolique selon l'espèce considérée. *L. iners* semble être la souche la mieux adaptée à la digestion du glycogène avec un développement proportionnel aux augmentations de concentration. *L. crispatus* lui aussi est compétent même s'il paraît nécessiter des taux de substrat plus élevés. En revanche, *L. gasseri* et *jensenii* ne peuvent pas utiliser le glycogène comme source nutritive. Comment expliquer alors leur présence significative dans le milieu urogénital ?

La réponse à cette question est constituée par la présence dans les sécrétions vaginales d'une α -amylase qui se charge de dégrader le glycogène en métabolites osidiques plus petits et non ramifiés comprenant le glucose facilement assimilables par les lactobacilles. A partir de cela, ces derniers réalisent une glycolyse anaérobie (la cavité vaginale étant virtuelle et très pauvre en oxygène, elle est assimilée à un environnement anaérobie) produisant de l'acide lactique qui participe à l'abaissement du pH vaginal.

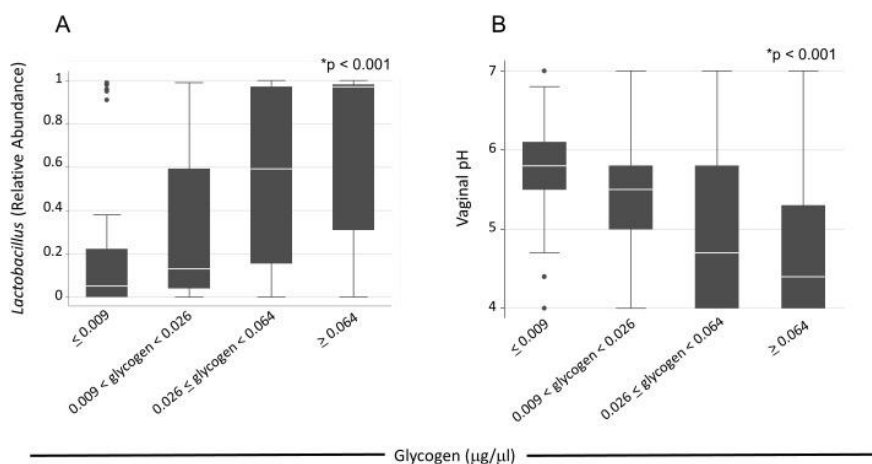


Figure 14 : évolution de l'abondance en lactobacilles et du pH en fonction des taux de glycogène vaginaux[30]

L'acidité du milieu est un paramètre qui influence l'activité de l' α -amylase [32]. En effet son activité est maximale quand le milieu se trouve autour de 6 et se trouve diminuée de moitié au pH vaginal situé de 4 à 4,5. Cela semble s'opposer au maintien de la dominance des lactobacilles dans le milieu : si l'activité enzymatique diminue, la quantité de substrat diminue donc théoriquement l'abondance des communautés aussi. Or dans les faits, il y a corrélation entre des taux de glycogène importants et le développement des populations du microbiote. La raison expliquant cela reste encore aujourd'hui obscure. Certaines hypothèses avancées envisagent la possibilité de participation d'autres enzymes d'origine bactérienne comme complément dans la dégradation du glycogène.

II.D.2 Activité anti microbienne des lactobacilles

Une très large majorité des études sur la protection urogénitale désigne la raréfaction des populations de lactobacilles comme un des facteurs participant à la manifestation des symptômes pathologiques. Ils sont à l'origine, par la constitution d'un biofilm vaginal influençant la résistance contre les perturbations, d'effets antimicrobiens à plusieurs niveaux représentés sur la figure 14. L'ensemble des mécanismes décrits ci-après sont résumés en annexe 3.

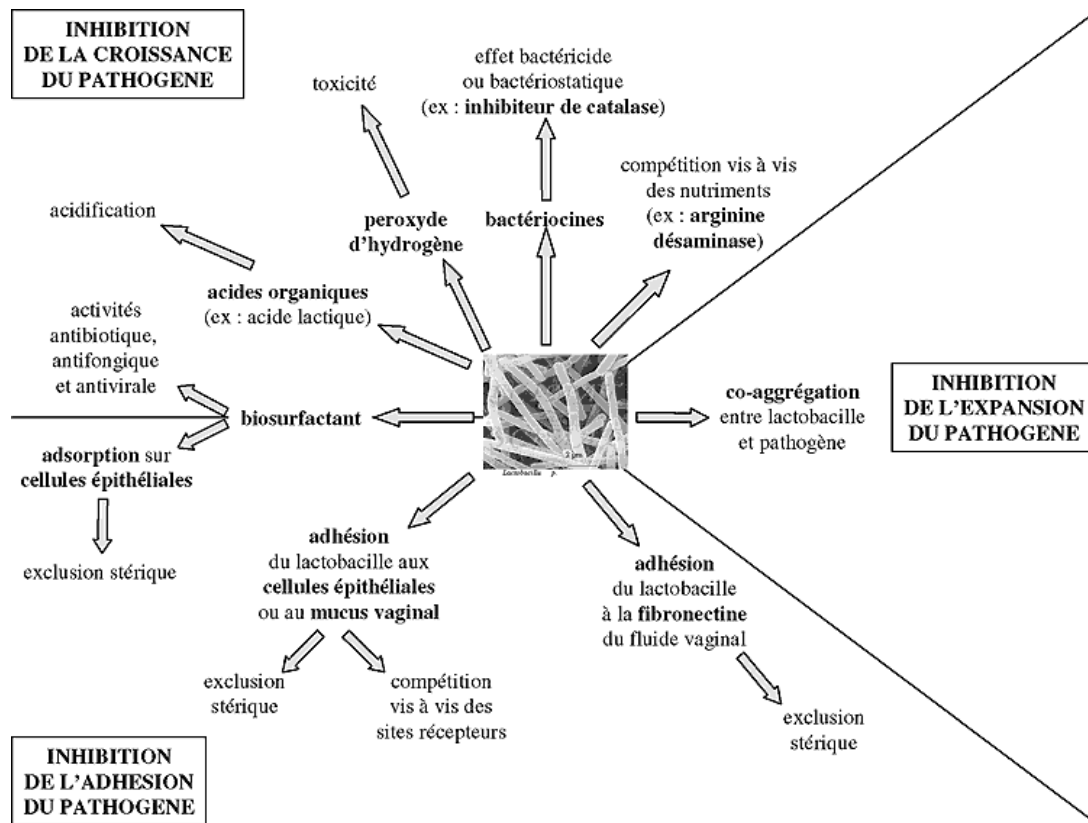


Figure 15 : effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène[33]

II.D.2.a Inhibition de la croissance du pathogène

II.D.2.a.i Production d'acides organiques

Nous avons vu précédemment qu'il était possible de faire un parallèle entre l'abondance en souches de lactobacilles, le pH vaginal et la quantité de substrat du milieu vaginal. Le glucose issu de la dégradation du glycogène est absorbé par les lactobacilles et dégradé par glycolyse anaérobie (cf annexe 2). Les lactobacilles et autres organismes consommant ce substrat dans le milieu vaginal produisent des lactates au niveau de leur cytoplasme, avant d'être excrétés dans le milieu extérieur où ils prendront selon le pH leur forme active d'acide lactique [32–35].

Si les lactobacilles sont les principaux contributeurs de l'acidification vaginale, ils ne sont pas les seuls à pouvoir réaliser la production d'acide lactique : l'épithélium vaginal en est lui aussi un producteur [33,34]. Il est lui aussi capable de réaliser les opérations de synthèse mais ne peut former qu'une seule forme isomérique (L) alors que les lactobacilles peuvent produire les deux isomères (D et/ou L). Dans son action, l'acide lactique augmente la perméabilité membranaire des bactéries GRAM négatives, entraînant une acidification du cytoplasme conduisant à une inhibition du métabolisme bactérien.

Un autre acide est aussi détectable dans le microbiote vaginal : il s'agit de l'acide acétique. Il est métabolisé à partir de l'acide lactique présent dans le milieu par certaines souches bactériennes mais aussi par des lactobacilles.

Enfin, un dernier mécanisme minoritaire mais néanmoins existant, participe à l'acidification de la muqueuse vaginale. Au niveau du pôle apical de l'exocol, des pompes à protons (H⁺-ATPases) envoient des protons du milieu intracellulaire vers la lumière vaginale [36]. Elles peuvent être uni- ou double sens avec échange d'ions potassium (K⁺) provenant des sécrétions vaginales.

Ces différents mécanismes participent au maintien de l'homéostasie vaginale en imposant une contrainte environnementale acide aux souches microbiennes présentes. Seules celles étant acidophiles telles que les lactobacilles peuvent s'y développer, la plupart des souches à potentiel pathogène (à l'exception de *C. albicans*) présentant une sensibilité à ce type de milieu.

II.D.2.a.ii Le peroxyde d'hydrogène

Certaines souches de lactobacilles sont capables de produire du peroxyde d'hydrogène, notamment *L. cripatius* et *jensenii*. Cette production se fait en l'absence de cytochrome, par l'intermédiaire de flavoprotéines qui couplées à une NADH peroxydase permet la formation de H₂O₂. La toxicité de ce composé s'effectue par sa conversion en un composé radicalaire cytotoxique qui entraîne la mort cellulaire par interaction avec les structures biologiques.

Si des études *in vitro* ont démontré l'efficacité des peroxydes contre les pathogènes urogénitaux habituels, la réalité *in vivo* semble contredire ces observations [35]. En effet, la concentration effective de peroxyde capable d'inhiber toutes les souches microbiennes pathogènes présentes correspond à 50 fois ce que peuvent produire les souches de lactobacilles urogénitaux dans des conditions optimales et aérobies et 5000 fois la concentration réelle estimée au niveau physiologique. Enfin, les sécrétions vaginales ont une action inhibitrice sur ses fonctions actives aux doses physiologiques.

L'action du peroxyde d'hydrogène *in vivo* est potentialisée par le couplage avec des ions halogénures présents au niveau des sécrétions génitales. Il est alors actif sur la plus part des bactéries pathogènes courantes sans présenter de toxicité excessive.

II.D.2.a.iii Les bactériocines

Ce sont des substances protéiques antimicrobiennes synthétisées par les bactéries, à spectre d'action restreint. Elles agissent en créant des pores au niveau de la membrane induisant la lyse de la cellule. Au niveau vaginal, elles sont produites chez certaines souches comme *L. acidophilus*, *brevis*, *salivarius* ou encore *casei ssp rhamnosus* et peuvent avoir une action synergique avec l'acide lactique ou le peroxyde d'hydrogène. [39]

II.D.2.a.iv Compétition vis-à-vis des nutriments

Il s'agit d'empêcher la formation de métabolites nocifs en métabolisant le substrat nutritif concerné avec une autre enzyme donnant des produits non agressifs.

L'exemple le plus connu est la métabolisation de l'arginine par l'arginine décarboxylase au cours des bactérioses vaginales qui conduit à la production d'une polyamine, la putrescine qui dégage une odeur de poisson caractéristique. Certains lactobacilles synthétisent une autre enzyme, l'arginine désaminase active sur le même substrat mais dont le métabolite est la citruline qui est une source nutritive pour les lactobacilles. Cette compétition pour les

substances nutritives entraîne une limitation du développement des souches potentiellement pathogènes et des désagréments occasionnés par leurs produits de dégradation.

II.D.2.b **Inhibition de l'adhésion du pathogène**

II.D.2.b.i **Adhésion aux cellules épithéliales vaginales**

Les lactobacilles présents en surface de l'épithélium vaginal constituent un biofilm couvrant au moyen de liaisons qui peuvent être spécifiques (adhésines se fixant sur des récepteurs épithéliaux spécifiques) ou non (liaisons de Van Der Waals, électrostatiques ou hydrogènes). [30]

La nature des adhésines est variable (protéique, polysaccharidique, lipoteichoïque...) et leur récepteurs peuvent être fixés à l'épithélium ou contenus dans le mucus vaginal.

II.D.2.b.ii **Adhésion à la fibronectine humaine**

C'est une protéine de haut poids moléculaire soluble dans les fluides physiologiques ou bien sous forme fibrillaire dans la matrice extracellulaire des muqueuses. Elle permet la modulation des interactions entre la matrice et les cellules par l'intermédiaire d'adhésines et d'intégrines cellulaires. Elle constitue aussi une structure de base pour la fixation des communautés microbiennes présentes à son contact. Son activité adhésive est stimulée par l'acidité du milieu.

II.D.2.b.iii **Les biosurfactants**

Ce sont des molécules glycolipidiques ou lipopeptidiques amphiphiles synthétisées par les constituants microbiens de la flore. Par leur nature, elles permettent la stimulation de la croissance sur support organique sources de nutriments, l'adhésion intercellulaire, et la constitution de biofilm.

Les biosurfactants sont présents aussi bien chez certains lactobacilles (*L.fermentum*, *acidophilus*) que chez des souches pathogènes (*E.coli*, *C.albicans*...). Certains semblent avoir un effet antimicrobien par effet sur les tensions superficielles membranaires pouvant entraîner une rupture cellulaire à forte concentration.

II.D.2.c **Inhibition de l'expansion du pathogène : co-agrégation**

Il s'agit d'une agrégation intercellulaire entre micro-organismes de souches ou d'espèces différentes au moyen de promoteurs d'agrégation dont l'activité peut être modulée par le milieu. C'est un mécanisme spécifique de certaines populations comme par exemple *L.gasseri*, *L.acidophilus*, *L.jensenii* qui se co-agrègent avec *E.coli*, *C.albicans* et *G.vaginalis* mais pas avec *S.agalactiae*. Ainsi il empêche la fixation des pathogènes sur l'épithélium en les privant de l'accès aux récepteurs par encombrement stérique.

PARTIE 2 : LES PATHOLOGIES DE L'APPAREIL UROGENITAL

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 particulièrement en *L. crispatus et jensenii*. Il s'agit cependant d'un environnement dynamique et influençable par les variations hormonales (cycle, grossesse, contraception...) et environnementales (activité sexuelle, hygiène...) [37]. 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 avec 6 millions de consultations et 300 millions d'euros par an pour leur diagnostic et leur traitement [38]. 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.

I.A Physiopathologie des infections urinaires

I.A.1 Les symptômes infectieux

En règle générale, l'appareil urinaire est considéré comme stérile à l'exception des premiers centimètres de l'urètre. Lorsqu'une contamination survient, elle déclenche une réponse inflammatoire de l'urothélium. Elle peut être limitée à la vessie (cystite) ou remonter dans le tractus urinaire supérieur jusqu'au rein (pyélonéphrite).

L'infection urinaire se manifeste par un syndrome irritatif associant ou non une pollakiurie (augmentation de fréquence sans augmentation du volume), des brûlures et une impériosité détériorant le confort mictionnel qui mènent souvent à la consultation.[39]

D'autres signe inconstants peuvent se manifester comme la présence de globules blancs dans les urines (trouble plus ou moins important) associée ou non à une mauvaise odeur, une pesanteur vésicale pouvant être douloureuse, une dysurie et enfin une hématurie qui n'est ni spécifique, ni un facteur de gravité contrairement à deux autres critères: une fièvre supérieure à 38°C et une douleur abdominale et/ou lombaire. Ils indiquent l'évolution de l'infection en pyélonéphrite nécessitant une prise en charge hospitalière.

I.A.2 Les pathologies urinaires

Nous pouvons regrouper les infections urinaires en plusieurs catégories comme le montre la figure 16 :

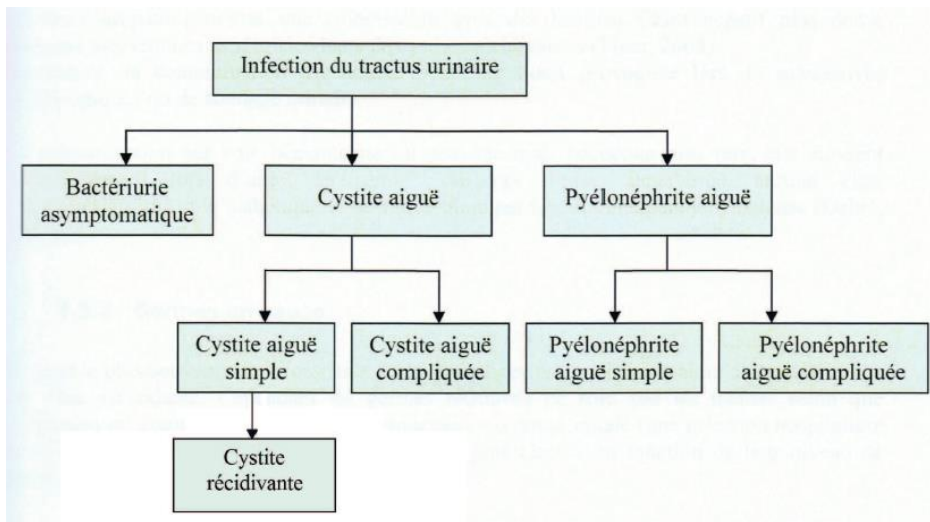


Figure 16 : classification des pathologies urinaires [39]

I.A.2.a La bactériurie asymptomatique

Il s'agit d'un syndrome infectieux associant des signes biologiques (bactériurie supérieure à 10^4 par millilitre ou 10 par mm^3) sans signe clinique. Elle est le plus souvent rencontrée de façon fortuite lors d'analyses d'urine de routine. C'est un syndrome bénin n'imposant habituellement pas de traitement sauf cas à risque comme les enfants, les femmes enceintes, les diabétiques ou les personnes présentant un reflux vésico-urétral. Le plus souvent, la colonisation se fait par *E. coli* et guérit spontanément. Si tel n'est pas le cas, elle peut dériver sur une des autres pathologies décrites ci-après. [40–42]

I.A.2.b La cystite aiguë

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. Une surveillance accrue par analyse d'urine tous les deux ou trois mois est préconisée chez ces patients afin d'éviter les complications potentielles due à une évolution en pyélonéphrite.[40]

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. Le dernier cas est de survenue plus tardive que le premier (plus de trois semaines) et

l'un comme l'autre, bien qu'invalidants ne présentent en dehors de l'existence d'uropathies associées, aucun risque de dommages rénaux. [40]

I.A.2.c **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 micro-organisme 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.[43]. Elle prend un caractère compliquée lorsqu'elle se produit chez un patient présentant un des facteurs de risques évoqués précédemment.

I.A.3 **Pathogénicité des infections urinaires**

I.A.3.a **Les facteurs protecteurs de l'hôte**

Au niveau du tractus urinaire, nous sommes en présence d'un système stérile dans son ensemble à l'exception du premier tiers urétral présentant une flore constituée de micro-organisme d'origine cutanée, vaginale et fécale en raison des proximité de ces zones.

La colonisation qui en découle est limitée par :

- La longueur de l'urètre expliquant la prédominance des infections chez les femmes par rapport aux hommes.
- Le flux urinaire qui est permanent, unidirectionnel et sans turbulences permettant l'inhibition de l'adhésion bactérienne.
- La fréquence des mictions assurant l'évacuation d'éventuelles bactéries. Il est recommandé d'avoir au moins cinq mictions par jour pour éliminer le risque infectieux.
- Le pH acide de l'urine associé à l'urée, aux acides organiques et sels présents ayant une action inhibitrice sur la croissance des pathogènes.
- Les métabolites élaborés par l'appareil urinaire comme la protéine uromucoïde ou de Tamm-Horstfall (sécrété par les cellules tubulaires rénales, riche en mannose et sert de leurre aux adhésines bactériennes), les IgA sécrétoires (en cas d'infection), et les oligosaccharides du mucus vésical limitant l'adhésion bactérienne.
- La réponse inflammatoire déclenche la production de cytokines (IL1, 6 et 8) recrutant les polynucléaires neutrophiles et les cellules phagocytaires en charge de la circonscription de la colonisation.

I.A.3.b 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. [39,40]

I.A.3.b.i 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. De plus, les menstruations favorisent la macération et la prolifération des bactéries au niveau du méat urinaire entraînant une plus grande facilité de colonisation de l'urètre. La ménopause représentant aussi une diminution des concentrations hormonales, les femmes concernées seront-elles aussi plus facilement susceptibles de contracter des infections urinaires.

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. [39, 42, 44]

I.A.3.b.ii 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. D'autre part, si la contraception orale ne semble pas présenter de risque, les dispositifs de type diaphragme sont des sources d'accrochage et de colonisation bactériennes. 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.

I.A.3.b.iii 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) en cas de colonisation bactérienne. De plus il n'est pas rare que cette pathologie induise des névropathies potentiellement responsables pour l'appareil urinaire d'hypotension vésicale donc de résidus

post-mictionnel par vidange incomplète. La persistance de ces derniers constitue un réservoir bactérien éventuel et peut causer la transformation d'une cystite en pyélonéphrite.

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 la sonde constituent autant de voies de colonisations de l'appareil urinaire pouvant conduire à une pyélonéphrite.

I.A.3.c Le pouvoir pathogène bactérien

C'est la capacité des bactéries d'une part à se multiplier et d'autre part à se disséminer dans l'appareil urinaire. Pour cela les bactéries sont dépendantes de leurs moyens d'adhésion à l'urothélium représentés par plusieurs types de molécules.[39]

I.A.3.c.i Les adhésines

Elles assurent la fixation aux cellules épithéliales et représentent le facteur d'uropathogénicité le plus répandu. La colonisation se fait par un système d'attachement spécifique entre une adhésine bactérienne et un récepteur urinaire présent dans le mucus à la surface de l'urothélium. Il peut s'agir de structures protéiques (protéine de Tamm-Horstfall, lectine, IgA, glycoprotéines) ou d'éléments non protéiques comme le mannose ou l'acide sialique. Les adhésines sont portées par des pili ou fimbriaes (filaments présents à la surface des bactéries).

Il existe plusieurs types d'adhésines mais deux représentent la plus grande part du pouvoir pathogène:

- P-fimbriae ou pili de type P : cette adhésine se lie à un récepteur polysaccharidique présent à la surface des érythrocytes engendrant une hémagglutination.
- Les adhésines de type 1 ou pili de type 1 : le récepteur est un D-mannose présent au niveau du mucus vésical, des polynucléaires et du tube contourné proximal rénal.

I.A.3.c.ii Le lipopolysaccharide

C'est un composant majeur de la surface externe de toutes les espèces bactériennes à GRAM négatif. Il est composé de trois parties (lipide A, noyau variables et antigène O hypervariable) [45]. Le lipide A possède l'activité endotoxinique responsable du déclenchement de la réponse inflammatoire. L'antigène O sert au sérotypage des GRAM négatifs mais joue aussi un rôle au niveau de la résistance à la phagocytose et l'adhérence aux tissus de l'hôte.

I.A.3.c.iii L'antigène capsulaire

C'est un polysaccharide extracellulaire aussi appelé antigène K. Il protège les bactéries de la phagocytose et des réactions inflammatoires.

I.A.3.c.iv L'hémolysine

C'est une protéine cytotoxique responsable de la destruction des hématies produite par seulement 50% des uropathogènes.

I.A.3.c.v L'aérobactine

Il s'agit d'une protéine bactérienne favorisant le métabolisme oxydatif du fer donc améliorant l'aérobie des bactéries aéro-anaérobies responsables de pathologies urinaires et donc leur virulence.

I.B Diagnostic microbiologique

I.B.1 Les outils diagnostiques

I.B.1.a L'ECBU

Le diagnostic de certitude repose sur l'examen cyto-bactériologique des urines (ECBU), dont les résultats, lorsqu'ils sont positifs, sont accompagnés d'un antibiogramme testant la sensibilité du germe isolé aux différentes classes d'antibiotiques.

L'ECBU doit être pratiqué avant tout traitement antibiotique, de préférence sur la première miction matinale, avec une technique de recueil rigoureuse pour éviter les souillures par les bactéries des voies génitales par désinfection du méat urinaire et des zones avoisinantes. Chez le nourrisson, le recueil se fait par une poche autocollante stérile. Le sondage et la ponction sus-pubienne doivent rester des méthodes exceptionnelles (grabataires, comateux). La conservation du recueil doit être la plus courte possible (à 4°C) avant examen.[46]

L'ECBU associe:

- un examen bactériologique avec microscopie directe pour rechercher les germes (bactériurie), les colorer (coloration de Gram), analyser leur morphologie et mise en culture pour identification et numération des colonies
- un examen cytologique: numération des leucocytes altérés (pyurie) ou non, des globules rouges, des éventuels cylindres et cristaux.

Classiquement, la bactériurie est dite significative lorsqu'il existe au moins 100 000 bactéries/ml d'urines. Une leucocyturie est significative à partir de 10 000 leucocytes/ml d'urines. Cependant, il a été démontré qu'il existait des cystites vraies avec un taux de 100 ou 1000 bactéries/ml d'urines. Il est généralement admis que le diagnostic nécessite un taux moins élevé de bactéries/ml chez l'homme (1000 ou 10 000) que chez la femme (100 000). (Tableau1)

Tableau 1:interprétation des résultats de l'ECBU [47]

Leuco./ml	Bact./ml	Culture	Interprétation
≤ 10 000	< 1000	-	urines normales
> 10 000	≥ 100 000	+	IU certaine
> 10 000	≥ 1000 et < 100 000	+	IU possible, à reconstrôler (urétrite, prostatite chronique)
> 10 000	< 1000	-	IU décapitée par ATB Penser aussi aux tuberculose, bilharziose, néphropathie interstitielle chronique, urétrite, tumeur urothéliale, lithiase, germes exigeants
≤ 10 000	> 1000	+	Souillures, surtout si espèces de germes multiples. Reconstrôler CBU

I.B.1.b 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 4)

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*.

I.B.1.c L'imagerie dans le diagnostic des infections urinaires

L'imagerie est intéressante à plusieurs titres. Elle permet de détecter des anomalies de l'appareil urinaire, d'affirmer l'atteinte parenchymateuse et de rechercher d'éventuelles complications.[47]

I.B.1.c.i Echographie

L'échographie des reins et des voies excrétrices a pour avantages d'être un examen non invasif et facile d'accès. Elle permet de visualiser le contour des reins et d'apprécier l'échogénicité du parenchyme rénal et l'état des voies excrétrices. Son intérêt principal réside dans la recherche d'une complication avérée : image directe de lithiase, image indirecte de dilatation des voies urinaires en amont d'un obstacle, suppuration intra-rénale ou péri-néphrétique.

Bien que sa valeur dépende du matériel utilisé et de la morphologie du patient, l'échographie détecte la plupart des atteintes nécessitant un geste chirurgical urgent. Son but étant le dépistage de complications potentiellement graves et pas nécessairement prédites par l'examen clinique, il faut réaliser cet examen rapidement : sans délai chez un patient en sepsis grave ou en insuffisance rénale aiguë, dans les 24 h pour les autres situations.

I.B.1.c.ii La tomodensitométrie (TDM)

C'est un examen de type scanner. Elle permet une étude morphologique et fonctionnelle de l'appareil urinaire. L'injection de produit de contraste rend en effet possible l'analyse de l'aspect des lésions parenchymateuses rénales aux différents temps de la néphrographie et représente la technique d'imagerie la plus sensible (> 90 %) pour détecter un foyer de pyélonéphrétique ou un abcès.

I.B.2 Les principaux agents pathogènes

Les uropathogènes sont classés en quatre groupes en fonction de leur pathogénicité comme figuré dans le tableau 2.[42]

Tableau 2:classification des uropathogènes [47]

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 (Klebsiella spp, Proteus spp, Enterobacter...)</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

	<p style="text-align: center;"><i>Enterococcus spp</i> <i>Corynebacterium urealiticum</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>
GROUPE III	<p>Bactéries dont l'implication est peu fréquente avec bactériurie élevée ($\geq 10^5$ UFC/ml) et isolation dans au moins deux échantillons d'urine</p> <p style="text-align: center;"><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></p>
GROUPE IV	<p>Espèces appartenant aux flores urogénitales considérées en général comme contaminants</p> <p><i>Streptocoques ahémolytique, Gardnerella vaginalis, Lactobacillus spp., bacilles corynéformes sauf C.urealyticum.</i></p>

Les germes du groupe I sont le plus souvent retrouvés en cas d'infection et sont généralement synonyme d'une contamination fécale.

I.C Traitements des infections urinaires

L'objectif des traitements est de supprimer rapidement les symptômes aigus, de prévenir les complications, d'endiguer et de guérir l'infection sans sélectionner de germes résistants et d'éviter l'apparition de récurrences et tout cela à un coût raisonnable. Pour ce faire, ils doivent avoir un large spectre antibactérien, une forte concentration urinaire, une administration orale, un nombre de prise réduit, une bonne tolérance et une faible toxicité. [48]

I.C.1 Les différentes molécules antibiotiques

Tableau 3: antibiotiques utilisés dans le traitement des infections urinaires (réalisé à partir de eureka-santé.fr)

Antibiotique	Spectre d'action	Exemple de spécialités	Remarques
Bêta-lactamines	Très large	Pénicillines : Amoxicilline (Clamoxyl®) + acide clavulanique (Augmentin®) Céphalosporine de 3 ^{ème} génération : Cefixime (Oroken®)	Élimination urinaire sous forme active. Développement de résistances avec pénicilline.
Aminosides	Bactéries Gram positif	Trobramycine (Nebcine®)	Voie injectable Toxicité cochléo-vestibulaire et rénale en doses élevées et traitement prolongé Association avec bêta-lactamines ou

			fluoroquinolones Infections des voies urinaires hautes
Triméthoprimé-sulfaméthoxazole	La plupart des bactéries infectieuses urinaires	Bactrim® Bactrim forte®	Association synergique sur la voie des folates Longue demie- vie : 11h Fortes concentrations urinaires Effets secondaire digestifs et hématologiques 10 à 40% de résistances
Nitrofurantoïne	Entérobactéries Gram négatives Gram positifs	Furadantine®	Indication dans les infections urinaires uniquement Absorption importante et rapide Effets secondaires digestifs, neurologiques et nombreuses interactions médicamenteuses
Fosfomycine trometamol	Gram positifs et négatifs	Monuril® Uridoz®	Utilisée en monodose Elimination urinaire forte (85% de la dose active), durée de vie de 36 à 48h
Fluoroquinolones	Gram négatif Gram positif <i>in vitro</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>	Péfloxaciné (Péflacine®) Ofloxaciné (Oflocet®) Ciprofloxacine (Ciflox®) Norfloxacine (Noroxine®) Loméfloxacine (Logiflox®)	Risque de tendinopathie Sensibilité aux UV Fort pouvoir bactéricide même sur <i>C. trachomatis</i> Peu d'atteinte de la flore vaginale

I.C.2 Les stratégies thérapeutiques des cystites

I.C.2.a Les cystites simples

Le traitement probabiliste recommandé est indiqué dans le tableau 4.

Tableau 4 : stratégie thérapeutique des cystites simples [46]

1^{ère} intention :	fosfomycine trométamol 3g en <i>dose unique</i>
2^{ème} intention :	fluoroquinolone <i>dose unique ou 3 jours</i> norfloxacin 800mg en 2 prises/j pendant 3 jours, ofloxacin 400mg en 1 prise ou 200mg 2 fois/j pendant 3 jours ciprofloxacine 500mg en 1 prise ou 250mg 2 fois/j pendant 3j loméfloxacin 400mg/j pendant 3 jours
3^{ème} intention	pivmécillinam 400mg 2 fois/j pendant <i>5 jours</i> ou nitrofurantoïne <i>en cas d'échec</i> 50 à 100mg 3 fois/j pendant <i>5 jours</i>

I.C.2.b Les cystites compliquées

Dans ce cas de figure, l'antibiothérapie doit être guidée par les résultats de l'ECBU, de l'antibiogramme et de tout autre examen complémentaire éventuel, ce protocole permettant d'adapter directement la thérapeutique aux pathogènes, évitant ainsi la sélection de résistances. Les antibiotiques sont les mêmes que précédemment mais la durée de traitement recommandée est d'au moins 5 jours sauf pour la nitrofurantoïne qui est de 7 jours .[49]

Si le traitement ne peut être différé dans l'attente de l'antibiogramme alors le traitement probabiliste sera le tableau 5.

Tableau 5: stratégie thérapeutique des cystites récidivantes [49]

1^{ère} intention :	céfixime 200mg par jour pendant <i>au moins 5 jours</i>
2^{ème} intention :	fluoroquinolones pendant <i>au moins 5 jours</i>
3^{ème} intention :	nitrofurantoïne en cas d'échec pendant <i>7 jours</i>

En cas d'évolution défavorable, un ECBU immédiat est recommandé.

I.C.2.c Les cystites récidivantes

Dans le cas des formes récidivantes, plusieurs stratégies sont possibles :

- Un traitement probabiliste à dose unique ou sur 3 à 5 jours à chaque récurrence en changeant de molécule et ECBU avec antibiogramme.

- Une prophylaxie post coïtale à base de cotrimoxazole si la corrélation avec l'activité sexuelle a pu être faite
- Une prophylaxie continue à faible dose pour une durée de 6 à 12 mois (exemple : cotrimoxazole 800mg 3 fois par semaine)

Il est à noter que les risques de rechute à l'arrêt du traitement sont importants.

Dans le cas des infections récidivantes chez les femmes ménopausées, une association de cotrimoxazole avec des crèmes à base d'oestrogène sont recommandés.

I.C.2.d **Traitement des cystites chez la femme enceinte**

Ces cystites relèvent des cas compliqués. Il sera nécessaire de faire des contrôles urinaires réguliers à partir du 4^{ème} mois afin de ne pas rater d'éventuelle bactériuries asymptomatiques pouvant évoluer en pyélonéphrite. Le choix des molécules se fera parmi la liste suivante :

Tableau 6: antibiotiques autorisés et contre-indiqués dans le traitement des infections urinaires de la femme enceinte [46]

Antibiotiques autorisés	Antibiotiques contre-indiqués
Amoxicilline	Fluoroquinolones
Céphalosporines	Cotrimoxazole (1 ^{er} trimestre)
Pivmecillinam	Fosfomycine (manque d'information)
Amoxicilline-acide clavulanique	Aminoside (toxicité potentielle pour l'appareil cochléo-vestibulaire du fœtus)
Nitrofurantoïne	Glycopeptides (innocuité non établie)*
Cotrimoxazole (du 4 ^{ème} au 8 ^{ème} mois)	

* Gravité d'une infection à staphylocoque chez la femme enceinte peut justifier cette utilisation (selon le rapport bénéfice/risque)

Les traitements s'effectueront sur des périodes de 5 à 7 jours. Dans le cas de cystites compliquées, les traitements s'apparentent à ceux hors grossesse dans la limite des molécules autorisées.

II Les infections de l'appareil génital

Nous traiterons ici d'une liste non exhaustive de pathologies touchant l'appareil génital et uniquement chez les femmes.

II.A L'exploration clinique

Lorsqu'une bactériose vaginale se manifeste, des symptômes caractéristiques se déclarent conduisant les patientes à consulter. Ces différents symptômes peuvent être présents en même temps ou isolés et leur intensité est variable. Les manifestations sont quasiment constamment constituées de leucorrhées. Physiologiquement, elles correspondent à un écoulement clair, inodore, dû à des sécrétions glandulaires endocervicales, vulvaires et péri-urétrales. L'état pathologique peut être envisagé dès lors qu'elles présentent une consistance ou une couleur modifiée, une odeur ou qu'elles sont associées à des brûlures, prurit, dyspareunie liée à un état inflammatoire (douleur au moment des rapports sexuels), dysurie et/ou brûlures mictionnelles. [50]

Un interrogatoire clinique permettra d'apporter un début d'orientation concernant le diagnostic :

- Circonstance de survenue de la leucorrhée : rapports sexuels, avortement, exploration gynécologique, antibiothérapie...
- Habitudes d'hygiène
- Examens et traitements déjà prescrits et leurs résultats
- Symptômes du ou des partenaires
- Antécédents gynécologiques et obstétricaux

Un examen clinique externe (zone vulvaire, périnéale, inguinale et anale) et interne (col et vagin avec spéculum) ainsi qu'un toucher vaginal sont pratiqués afin de préciser la nature de l'ensemble des symptômes et d'orienter l'étiologie.

II.B Les outils du diagnostic

II.B.1 Les prélèvements

Le prélèvement est utilisé après l'examen clinique et sert trois objectifs :

- la recherche d'une cause à une pathologie infectieuse vaginale chez les femmes symptomatiques
- la recherche d'une bactérie à haut risque infectieux chez les femmes non symptomatiques au cours de la grossesse
- la recherche de germes lors d'une suspicion de contamination de type IST (infection sexuellement transmissible).

Il sera réalisé en deux exemplaires, l'un pour une observation microscopique directe à l'état frais avec et/ou sans coloration, et l'autre pour la mise en culture et d'éventuels autres examens.

En fonction du pathogène recherché, la zone de prélèvement ne sera pas la même comme le montre le tableau 7.[51]

Tableau 7: approche diagnostique des leucorrhées selon le germe suspecté [51]

	Prélèvement	Microscopie	Culture	Amplification génique
<i>Gonocoque</i>	Endocol Et méat urinaire	Coloration Gram	Indispensable pour sensibilité aux Antibiotiques (peu sensible chez la femme)	A associer à la culture si possible
<i>C. trachomatis</i>	Endocol	IFD à abandonner	Centre spécialisé	Indispensable
<i>M. genitalium</i>	Endocol	Impossible	Très difficile	Indispensable
<i>M. hominis & ureaplasma</i>	Culs de sac Endocol	Impossible	Milieu liquide & solide	Possible
<i>T. vaginalis</i>	Cul de sac vaginal	Etat frais	Possible, problème de sensibilité aux milieux commercialisés	Inexistant
<i>Vaginose</i>	Cul de sac vaginal	Coloration Gram Score Nugent	possible	Sans intérêt

II.B.2 Les critères cliniques

Le diagnostic réalisé par le professionnel se base de façon consensuelle sur les critères d'Amsel [52] désignant comme bactériose vaginale tout tableau clinique présentant au moins trois des paramètres suivants :

- Sécrétions vaginales blanches ou grises, fluides et homogènes
- Un pH vaginal supérieur à 4,5
- Odeur désagréable de poisson après l'ajout de KOH, c'est le test à la potasse (ou amine test ou sniff-test) qui consiste à ajouter de l'hydroxyde de potassium à 10 % aux sécrétions vaginales fraîches. Le résultat si positif est une odeur caractéristique de poisson par réactions avec les substances aminées produites par les bactéries anaérobies.
- Présence de cellules indicatrices (clue cells) à l'examen microscopique

Dans la pratique, le dernier indicateur n'est quasiment pas utilisé, l'observation microscopique n'étant pas réalisée en routine lors des visites chez le médecin généraliste.

D'autre part, bien que démontrant une spécificité dans l'ensemble importante, cette méthode diagnostique présente l'inconvénient d'avoir une sensibilité globale relativement faible comme l'indique le tableau suivant. [53] Le nombre figurant entre parenthèse représente le pourcentage obtenu par répétition de la mesure, son absence signifiant l'obtention d'un résultat identique. (Tableau 8)

Tableau 8: sensibilité et spécificité des critères d'Amsel comparativement au score de Nugent

Méthode diagnostique	sensibilité (%)	spécificité (%)
Total des critères de Amsel	37	99
pH vaginal >4.5	83 (84)	69
Cellules indicatrices présentes	33 (32)	98
Test à la potasse positif	45 (44)	96
Sécrétions vaginales	35 (33)	85 (84)

Ce procédé diagnostique reste donc à réserver pour des signes caractéristiques ou sera complété par une étude microbiologique plus poussée.

II.B.3 Les critères microscopiques

Ils permettent de repérer des éléments clés tels que les cellules épithéliales, les polynucléaires ou les levures par exemple. La microscopie est pratiquée sur prélèvement frais avec ou sans coloration.

Les critères microscopiques sont évalués par l'attribution du score de Nugent. C'est l'examen diagnostique de référence, réalisé en routine dans les laboratoires d'analyse dans le cadre d'études microbiologiques de prélèvements vaginaux.

Il s'agit d'une appréciation semi-quantitative de trois morphotypes bactériens à partir de l'observation au microscope (grossissement x1000 avec immersion) des sécrétions vaginales entre lame et lamelle après coloration de GRAM. L'établissement du score tient pour l'essentiel de la corrélation inverse entre les concentrations respectives en lactobacilles et deux autres espèces bactériennes qui sont *Gardnerella vaginalis* et *Moniluncus spp* comme indiqué dans la figure 17. [54–57]

Tableau 9: attribution du score de Nugent [56]

Étape 1 : attribuer un sous-score en fonction de la quantification de 3 morphotypes bactériens.

	<i>Lactobacillus</i> spp	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Mobiluncus</i> spp
Sous-score	Nombre de gros bacilles à Gram positif par champ	Nombre de petits bacilles à Gram négatif ou Gram variable par champ	Nombre de bacilles à Gram négatif incurvé par champ
0	> 30	0	0
1	5-30	< 1	1-5
2	1-4	1-4	> 5
3	< 1	5-30	
4	0	> 30	

Étape 2 : classer la flore étudiée selon la valeur du score de Nugent définie par l'addition des 3 sous-scores précédents.
 Score ≤ 3 : flore normale
 Score entre 4 et 6 : flore intermédiaire
 Score ≥ 7 : vaginose bactérienne



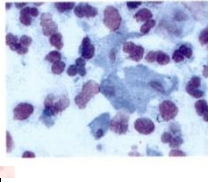
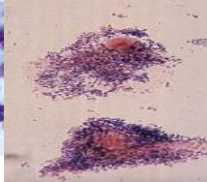
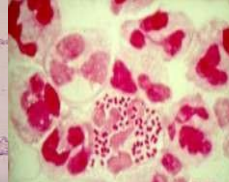
Selon le score obtenu, il est possible de catégoriser les situations : flore normale en dessous de 3, vaginose bactérienne au-dessus de 7 et flore intermédiaire entre les deux.

L'interprétation de ce dernier groupe est à ce jour sujet à controverse, il est en effet représentatif d'un microbiote dont la population lactobacillaire est diminuée ou remplacée par une espèce différente ne possédant pas les mêmes propriétés protectrices vis-à-vis du milieu et associée à une multiplication des autres bactéries anaérobies commensales. Cet état survient par exemple lors des variations transitoires au moment des périodes menstruelles et peut alors présenter ou pas des symptômes pathologiques et serait selon certaines publications, un indicateur de risque accru de complication notamment lors de la grossesse. [54]

Enfin, il existe deux cas dans lesquels score de Nugent se révèle inapplicable : si la densité bactérienne est insuffisante ou s'il y a présence d'un autre morphotype bactérien en absence de lactobacilles.

Voici, en pratique, ce que donnent les observations microbiologiques pour les pathologies génitales les plus fréquentes.(Tableau 10)

Tableau 10: Tableau récapitulatif des pathologies identifiables à l'examen direct après colorations usuelles (Gram, MGG) [51]

	PRELEVEMENT NORMAL	VAGINITE A <i>Candida albicans</i>	VAGINITE A <i>Trichomonas vaginalis</i>	VAGINOSE NON SPECIFIQUE	CERVICITE A <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Ecoulement	-	- peu abondant - blanchâtre - épais	- abondant - verdâtre nauséabond	-abondant -blanchâtre -adhérent -homogène	- souvent inexistant -leucorrhées épaisses et purulentes, colorées
Inflammation	-	+	+++	+/-	+++
Test à la Potasse	-	-	+/-	+	-
pH	<4.5	4	>4.5	>4.5	-
Examen microscopique					
	Gram	Gram	MGG	Gram	Gram
	-cellules épithéliales (quelques à nombreuses) -polynucléaires neutrophiles non altérés au cours de la 2ème moitié du cycle (+ à +++) -dominance de la flore de Döderlein (ou flore variée)	-assez nombreuses à nombreuses cellules épithéliales -rares à assez nombreux PN - nombreuses levures (+ filaments mycéliens) -rares à assez nombreux bacilles de Döderlein	-assez nombreuses à nombreuses cellules épithéliales -assez nombreux à nombreux PN - <i>Trichomonas vaginalis</i> + flore associée	-assez nombreuses cellules épithéliales - peu ou pas de PN -présence de « clue-cells » -peu ou pas de bacilles de Döderlein - <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Mobiluncus</i> + autres anaérobies	-très nombreux PN -diplocoques à Gram négatif, intra- ou extra-cellulaires

II.B.4 La mise en culture

C'est une procédure qui n'est pas systématique. Elle se fait pour les cas où les techniques précédentes font penser à la présence d'une vaginite (infection vaginale inflammatoire), ou dans le cas d'une femme enceinte chez qui est recherchée une bactérie à haut risque infectieux. Il est inutile de la pratiquer dans le cas de vaginoses non spécifiques, les agents pathogènes responsables étant présents de façon commensale dans le microbiote. [51]

Le tableau 11 résume les procédures d'analyses réservées au diagnostic des prélèvements génitaux.

Tableau 11 : examens directs et mise en culture des principaux prélèvements génitaux chez la femme (TAAN : technique d'amplification des acides nucléiques)

PATIENTE ↓ EXAMEN CLINIQUE ↓ PRÉLÈVEMENTS					
Vulve		Mise en place du spéculum		Retirer le spéculum	
		Paroi vaginale	Nettoyage du col Endocol et Endo-utérins	Urètre	Glandes de Bartholin
Examen direct	Sans intérêt	*État frais : – Cellules et polynucléaires = frottis inflammatoire ou non. – <i>Trichomonas</i> – Levures *Gram, classification de Spiegel ou Nugent) : – Flore de Doderlein – Levures – Flores de vaginose – Autres germes	*Gram +/- coloration cytologique : – Présence de polynucléaires – Présence de bactéries et leur morphotypes.	*Gram +/- coloration cytologique : – Présence de polynucléaires – Présence de gonocoques. – Présence de bactéries d'autres morphotypes. – Levures	*Gram +/- coloration cytologique : – Présence de polynucléaires – Présence de gonocoques. – Présence de bactéries d'autres morphotypes.
Mise en culture	– Sabouraud sélectif – Chapman – Gélose-sang	*Inutile pour le diagnostic des pathologies vaginales *Utile si vaginite bactérienne à l'examen direct (frottis inflammatoire + disparition des lactobacilles + présence d'un seul morphotype bactérien *Utile pour la recherche de BVHRI ^a pendant la grossesse *Milieux, au moins : – Gélose chocolat sous CO ₂ – Gélose Columbia sang de mouton en anaérobiose. – Sabouraud sélectif * Si autoprélèvement de dépistage de <i>Chlamydiae</i> : – TAAN ^b	*Au minimum : – Gélose chocolat enrichie sans inhibiteur – Gélose TS sang de cheval incubée en aérobies – Gélose Columbia sang de mouton en anaérobiose *Si suspicion de ITS : – TAAN *Si infection utéro-annexielle : – TAAN – Milieux mycoplasmes – Culture en bouillon sur les biopsies.	*Au minimum : – Gélose chocolat enrichie avec et sans inhibiteur – Gélose TS sang de cheval incubée en aérobies – Gélose Columbia sang de mouton en anaérobiose *Si suspicion de ITS : – TAAN – Milieux mycoplasmes	Au minimum : – Gélose chocolat enrichie sans inhibiteur – Gélose TS sang de cheval incubée en aérobies – Gélose Columbia sang de mouton en anaérobiose

La culture sur gélose Columbia au sang ou chocolat en anaérobiose suffit en général pour isoler les pathogènes responsables de vaginites. Les bactéries vaginales à haut risque infectieux peuvent aussi être cultivées sur ces milieux. Les levures aussi peuvent y pousser mais le milieu de Sabouraud, plus spécifique leur est préféré.

D'autre part, pour certains pathogènes intracellulaires (*T. vaginalis*), peu stables dans le milieu (gonocoque), ou dans les situations ne permettant pas les prélèvements endocervicaux (petite fille et femmes hystérectomisées), l'identification du pathogène passe par une amplification génétique par PCR et séquençage des ARN restés dans le prélèvement.

Enfin, les cultures permettent de réaliser des antibiogrammes et des antifongogrammes pour déterminer les stratégies thérapeutiques les mieux adaptées et éviter l'aggravation ou la récurrence des symptômes.

Résumé de la démarche diagnostique des prélèvements génitaux : cf annexe 5.

II.C Les pathologies vaginales

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

II.C.1 La vaginose bactérienne non spécifique

II.C.2 Epidémiologie

C'est une des pathologies les plus fréquentes avec une prévalence de 10 à 30% selon les pays, l'âge, les origines socio-économiques, les types de consultations et l'état de gravidité.[55]

En dehors de la grossesse, c'est une affection bénigne mais pouvant avoir un retentissement psychologique important chez les femmes pour qui elle devient chronique et récidivante.

II.C.2.a 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. Le tableau 12 indique les principaux germes présents lors des épisodes.

Tableau 12: diversité bactérienne de la vaginose non spécifique [58]

Principales bactéries de la flore vaginale normale retrouvées en grande quantité dans les tableaux de vaginose bactérienne et prévalence*,**.		
<i>Bactéries</i>	<i>Flore normale</i>	<i>Vaginoses</i>
<i>Prevotella</i>	40 %	91 %
<i>Peptostreptococcus</i>	60 %	80 %
<i>G. vaginalis</i>	11–69 %	90 %
<i>M. curtisii</i> et <i>mulieris</i>	< 6 %	14–96 %
<i>M. hominis</i>	0–22 %	24–75 %
<i>U. urealyticum</i>	50 %	50 %
<i>M. genitalium</i>	10 %	< 10 %
<i>Atopobium vaginae</i>	0–8 %	40–70 %

Mais aussi : *Streptococcus acidominus*, *S. intermedius*, *S. morbillorum*, *Atopobium rimae*, *Bifidobacterium urinalis*, *Leptotrichia amnionii*, *Sneathia sanguinegens*, etc.

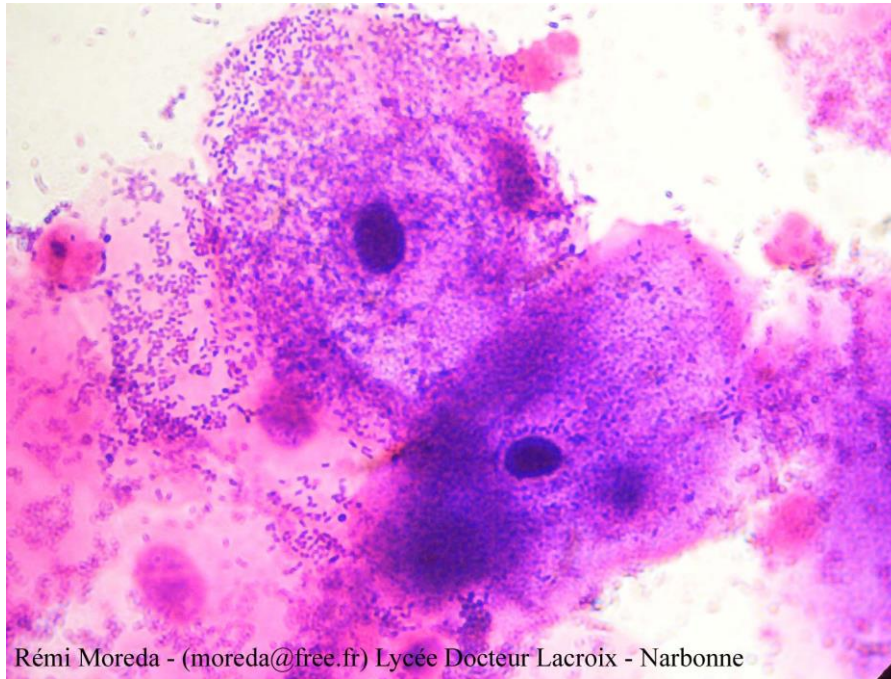
* Pour une patiente donnée, ni la présence, ni la nature du germe ne permettent le diagnostic de vaginose. Le normal et le pathologique se différencient uniquement par l'abondance des bactéries observées.
 ** Prolifération > 10⁸/g, soit 100 à 100 000 fois la concentration normale avec une diminution des lactobacilles.

II.C.2.b Principaux agents pathogènes

II.C.2.b.i 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.[59]

D'un point de vue bactériologique, c'est un petit bacille anaérobie facultatif, immobile et de Gram variable. Il peut être assemblé en paires ou en palissades et sa culture sur gélose au sang humain produit de petites colonies gris-bleues entourées d'une zone de β-hémolyse (inhibée si la culture est sur milieu au sang de mouton) .(Figure 20)



Rémi Moreda - (moreda@free.fr) Lycée Docteur Lacroix - Narbonne

Figure 17: frottis vaginal avec présence de cellules indicatrices (grand nombre de *G. vaginalis* fixées sur des cellules épithéliales) [57]

II.C.2.b.ii 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. [60]

II.C.2.b.iii Atopobium vaginae

C'est un bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, se présentant en chaînes courtes ou en paires. Son identification peut être confondue avec des lactobacilles ou certains streptocoques, la PCR est souvent utilisée pour la détection dans les sécrétions. [60]

Vaginae et Mobiluncus sont souvent mis en cause dans les vaginose récidivantes du fait de leur fréquente résistance au métronidazole. [61]

II.C.2.b.iv Mycoplasmes

Trois espèces sont reprouvées au sein de la flore vaginale normale : *Ureaplasma urealiticum*, *M. hominis* et *M. genitalium*. Le premier est majoritairement présent dans la cavité vaginale avec une prévalence de 50%, les deux autres étant beaucoup plus rares. Ce sont de bactéries aéro-anaérobies facultatives de très petite taille dépourvues de paroi. Leur identification passe par leur culture (lente : 48 h à 20 jours) sur des milieux contenant des stérols. Leur croissance donne de petites colonies à l'aspect d'œuf au plat dû à la pénétration des colonies dans la gélose. (figure 21) [62]

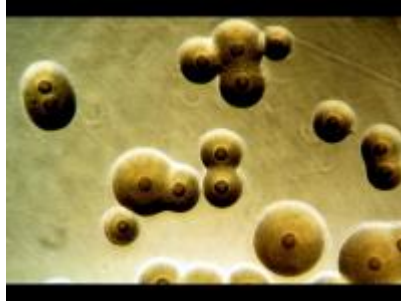


Figure 18: colonies de mycoplasmes [61]

Bien que son rôle dans la pathologie ne soit pas expliqué à ce jour, *M. hominis* est l'espèce la plus proliférative avec une représentation allant jusqu'à 75% de la flore anormale.

II.C.2.b.v Les autres bactéries anaérobies

Elles font partie de la flore vaginale normale. En cas de vaginose bactérienne, leur nombre augmente fortement. Comme pour les autres agents infectieux précédemment cités, leur rôle dans la pathologie n'est pas connu. Les bactéries présentes appartiennent à différents genres de bacilles anaérobies à Gram négatif (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*) ou positif comme les peptostreptocoques.[63]

Ces bactéries sont responsables d'une partie des symptômes présents en cas de vaginose, dont l'hyper desquamation épithéliale et de l'odeur par la production de méthylamine, isobutylamine, putrescine, cadavérine, histamine, tyramine et phénéthylamine par digestion d'acides aminés eux-mêmes synthétisés par *G. vaginalis*.

II.C.2.c Les signes cliniques

Le diagnostic de vaginose est posé dans un premier temps par le tableau clinique correspondant à au moins trois des critères de 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. [54,61,64,65]

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. L'ethnie est elle aussi un facteur comme nous l'avons vu en première partie.

II.C.2.d La stratégie thérapeutique

Le traitement se fait avec du métronidazole (Nitro-5-imidazolé inhibiteur de la synthèse des acides nucléiques) par voie orale (Flagyl®) ou locale (Rosacrème®, Rozex®). [55] La posologie est de 500 mg deux fois par jour pendant 7 jours,

Il faut cependant noter que si le taux de réponse à l'antibiothérapie se situe autour de 90%, la proportion de récurrence s'élève à 50% dans les six mois suivant l'épisode imposant un nouveau traitement.

Comme tous les médicaments, il peut induire l'apparition d'effets secondaires : coloration brune rougeâtre des urines, troubles digestifs (diarrhées, vomissements, sécheresse buccale,

perte du goût et de l'appétit), neurologiques (neuropathies sensitives périphériques, confusion, vertiges, convulsions), psychiques (dépression, paranoïa, hallucinations), troubles visuels, troubles de la coagulation (diminution du nombre de plaquettes) et augmentation des enzymes hépatiques. [66]

II.C.2.e Les complications obstétricales

II.C.2.e.i Conséquences obstétricales de la vaginose bactérienne

Pendant la grossesse, la présence d'une VB est associée à un risque de complications obstétricales (rupture prématurée des membranes, prématurité, chorioamniotite, naissance d'enfants de petit poids). L'association entre la vaginose bactérienne et un certain nombre de complications de la grossesse a fait l'objet de nombreuses publications qui tendent quasiment toutes à dire que les femmes enceintes présentant cette affection ont un risque d'accouchement prématuré deux fois supérieur en comparaison avec les femmes non pathologiques.[67] Le risque est d'autant plus grand que l'occurrence est précoce, surtout avant la 16^{ème} semaine d'aménorrhée (SA).

Quand la grossesse présente en plus des signes de complications comme une menace d'accouchement prématuré, la présence d'une vaginose multiplie par deux le risque de délivrance avant terme. Aucune association n'a été démontrée en revanche avec les infections néonatales et la mortalité périnatale. En plus de la prématurité, la présence d'une vaginose augmente le risque de fausse couche tardive et celui d'infection maternelle en post-partum.

II.C.2.e.ii Hypothèses physiopathologiques

L'association de la vaginose à la rupture prématurée des membranes, la chorioamniotite, l'accouchement prématuré et l'infection du post-partum suggère un rôle de l'infection génitale ascendante depuis la flore vaginale jusqu'aux membranes. D'autres éléments de nature immunitaire, la susceptibilité individuelle à l'infection et le déterminisme génétique sont des paramètres à considérer dans la physiopathologie de l'accouchement prématuré. Malgré ces notions, le lien avec la prématurité reste peu clair.

Les bactéries anaérobies concernées sont capables de produire des enzymes hydrolytiques de type glycosidases et protéases. Leur production serait dépendante de la composition de la flore vaginale. Ces enzymes sont capables d'induire la dégradation du mucus vaginal favorisant, de ce fait, la colonisation de l'épithélium vaginal par les bactéries qui les produisent. De façon plus spécifique, lors d'une menace d'accouchement prématuré, les femmes ayant une flore vaginale anormale (vaginose ou flore intermédiaire) associée à la présence d'enzymes hydrolytiques ont un risque de prématurité supérieur à celui des femmes ayant une flore vaginale anormale sans activité enzymatique détectée.[68] Ces enzymes ont en effet la capacité de cliver les IgA médiateurs inflammatoires de la réponse immunitaire à l'infection qui ne peut alors plus apporter une réponse suffisante à la colonisation. Il y a alors un risque de remontée de l'infection vers l'utérus pouvant potentiellement causer une chorioamniotite. D'un autre côté, la surexpression des facteurs inflammatoires sont une autre piste pour expliquer la prématurité.

II.C.2.e.iii Prévention des complications

L'accouchement prématuré se définit comme une naissance avant 37 SA. Sa fréquence en Europe est de 5 à 9 % avec un taux, en France, de 7 % en 2005. La prématurité peut être schématiquement divisée :[67]

- en prématurité spontanée, conséquence d'une mise en travail spontanée ou d'une rupture prématurée des membranes ;
- en prématurité induite imposée par l'équipe obstétricale en raison d'une pathologie maternelle ou fœtale compliquant la grossesse.

L'infection intra-utérine par voie ascendante et/ou l'activation des mécanismes de l'inflammation au niveau des membranes amniochoriales sont les principaux pourvoyeurs de la mise en travail spontanée et/ou de la rupture prématurée des membranes. Dans ce contexte la vaginose semble être une cible privilégiée de lutte contre la prématurité, puisqu'il existe un lien statistique démontré entre elle et la prématurité. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les femmes présentant un épisode en début de grossesse ont un risque multiplié par deux d'accoucher prématurément par rapport aux femmes indemnes d'infection. Il en découle l'hypothèse suivante : l'association d'un dépistage et d'un traitement de la VB durant la grossesse permettrait de réduire le taux de naissances prématurées avec des conséquences non négligeables en termes de santé publique et de pronostic néonatal.

Les premières études thérapeutiques publiées en 1995–1997, montraient que l'antibiothérapie orale par métronidazole permettait de réduire le taux de prématurité chez les patientes dépistées et traitées en début de grossesse. Mais les conclusions des premières méta-analyses publiées à partir de l'an 2000 ont été plus réservées sur le bénéfice du dépistage et du traitement en début de grossesse. En revanche, ces mêmes méta-analyses distinguent un groupe de patientes à risque en fonction de l'existence d'antécédent d'accouchement prématuré pour lequel un bénéfice en termes de réduction de la prématurité semble exister. Aussi de nombreuses sociétés ont préconisé la mise en place de stratégies de dépistage et de traitement en début de grossesse chez les patientes enceintes à haut risque d'accouchement prématuré.

En France, la Haute Autorité de santé recommande, depuis 2001, le dépistage de la VB en début de grossesse chez toutes les patientes ayant un antécédent de prématurité. Le traitement de la VB pendant la grossesse repose sur le métronidazole et la clindamycine (Tableau 13)

Tableau 13: traitement de la vaginose bactérienne pendant la grossesse [66]

Molécules	Posologie	Durée
METRONIDAZOLE	Comprimé 500 mg	2 fois /jour pdt 7 jours
	Comprimé 500 mg	4 comprimés en une seule prise
	Gel vaginal à 0,75%	5 g 2fois/jour pdt 7 jours
CLINDAMYCINE	Comprimé 300 mg	2 fois /jour pdt 7 jours

À l'heure actuelle, il n'existe aucun bénéfice en termes de prévention de la prématurité des stratégies de dépistage et de traitement de la vaginose bactérienne chez les patientes sans

antécédent de prématurité. Des investigations supplémentaires sont donc nécessaires pour améliorer le diagnostic du déséquilibre de la flore vaginale et l'identification des bactéries de la flore vaginale impliquées dans la prématurité, afin d'en reconsidérer la prise en charge.

Pour finir, l'impact de la présence de microorganismes (le plus souvent représentés par *G. vaginalis*, *C. albicans* et *U. urealyticum*) dans les protocoles implantatoires d'assistance médicale à la procréation fait encore débat à ce jour. Ce qui peut être déduit des publications est que ces derniers ne semblent pas influencer la nidification de l'embryon. En revanche, leur présence et plus encore la survenue d'épisodes de vaginose paraît être à l'origine de fausses couches au cours du premier trimestre.[69]

II.C.2.f **Influence des bactérioses vaginales sur l'infection à VIH**

Concernant les bactérioses, de nombreuses études ont été réalisées afin de comprendre leurs éventuels liens avec les co-infections possibles, notamment vis-à-vis des maladies sexuellement transmissibles (chlamydia, gonorrhée, herpès, HIV et trichomonas).[70]

D'une façon générale, ces deux catégories pathologiques influent l'une sur l'autre : leurs facteurs de risque sont les mêmes et elles agissent toutes sur le système immunitaire et le microbiote vaginal afin de subir le moins de contraintes qui limiteraient leur croissance, donc leur pathogénicité. Ce faisant, l'apparition d'une IST (infection sexuellement transmissible) favorise le développement des vaginoses et réciproquement.[71] Ce même rapport est repris entre ces dernières et le VIH.

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer cette relation [15]:

- Activation de phénomènes inflammatoires au cours de la vaginose
- Altération de l'épithélium vaginal et passage du VIH dans le chorion où sont localisés les lymphocytes
- Quantité réduite de lactobacilles induisant une élévation du pH et une diminution des taux de H₂O₂ (bactéricide et virucide in vitro)

D'autre part, les bactéries pathogènes synthétisent des enzymes s'attaquant non seulement aux immunoglobulines de type A (donc diminuant la réponse immunitaire) mais aussi aux cellules épithéliales, favorisant d'autant plus l'entrée du virus.

Les études ont également montré que les bactéries comme *G. vaginalis* et *M. hominis* (entre autres) stimulent l'augmentation de la charge virale bien que le phénomène n'ait été observé qu'in vitro. [15] Parallèlement, la vaginose induit une importante production par les monocytes d'interleukines intervenant dans le recrutement des cellules immunitaires, à commencer par les cellules dendritiques présentatrices antigéniques servant d'intermédiaire à la colonisation des lymphocytes par le VIH. Il n'a pas été observé cependant d'augmentation de l'infection entre ces deux derniers éléments. Avec l'augmentation des particules virales dans le microbiote, les risques de transmission de la contamination deviennent plus importants.

Bien que les mécanismes régissant ces relations ne soient pas clairement compris à ce jour, elles laissent entrevoir une piste de régulation : par le traitement des vaginoses bactériennes.

II.C.3 La vaginite à Candida

II.C.3.a Epidémiologie

C'est une affection gynécologique courante en consultation, elle toucherait environ 75% des femmes au cours de leur vie dont 40 à 50% subiraient des épisodes de récidives.

Candida albicans, une levure commensale du tractus génital et gastro-intestinal, est responsable de 85 à 90 % des candidoses vulvo-vaginales. Depuis quelques années, il y a eu une émergence des espèces *C. non albicans*, essentiellement *C. glabrata*, isolée avec une prévalence de 5 à 15 % des cas, alors que *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei* sont rarement isolées. Les espèces non *albicans* (15 à 47 %) ont été particulièrement impliquées dans la pathogénèse des récurrences avec une prédominance de *C. glabrata* (6–29 %).[72,73]

II.C.3.b Physiopathologie

II.C.3.b.i 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*).

II.C.3.b.ii 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 vulvovaginale, 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 (2^e partie) et leur siège exact, interne et/ou externe (vulvite et/ou vaginite).

II.C.3.b.iii Pathogénèse

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.[73]

- la sécrétion des Secreted aspartyl proteinases (Sap1, Sap2, Sap3). Sap 2 peut conférer une forte colonisation et une action pathogène au champignon soit par un clivage protéolytique des facteurs immunitaires humoraux et cellulaires, soit par une adhérence et dégradation de la kératine des cellules épithéliales, soit par une destruction directe des cellules épithéliales soit par la combinaison des trois mécanismes.

- •la sécrétion de mycotoxine qui peut inhiber l'activité phagocytaire au niveau de la muqueuse vaginale.

- le switch dimorphique: c'est la capacité de se transformer de la forme levure en filament mycélien pouvant échapper au système immunitaire. Cette transformation est indispensable à l'infection et à l'invasion vaginale, les mycéliums montrant une forte adhérence aux surfaces kératinisées de l'épithélium. Les gènes qui contrôlent la morphogénèse sont co-régulés avec d'autres gènes codant pour certains facteurs de virulence, tels que les Saps et les adhésines, de façon à favoriser la pathogénicité.

II.C.3.b.iv Facteurs favorisant l'infection

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.

- 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. Par ailleurs, *C. albicans* possède un récepteur cytosolique pour les hormones reproductives femelles. Il est actuellement suggéré qu'un déséquilibre de la balance hormonale : diminution du taux de progestérone et augmentation de celui d'oestradiol, favorisent le switch dimorphique de la forme levure vers la forme mycélienne pathogène et induit par conséquent les symptômes caractéristiques de la candidose.[74]

- 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. L'hyperglycémie limite la capacité de phagocytose et d'élimination de l'agent pathogène par les neutrophiles.[73]

- 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*. En effet, dans les conditions normales, les lactobacilles constituent une barrière qui inhibe la colonisation et la germination des levures au niveau du vagin. L'utilisation d'antibiotiques à large spectre constitue donc un facteur de risque.[73]

- HIV

La candidose paraît être plus fréquente et plus persistante chez les femmes HIV positive mais elle n'est pas plus sévère. Une étude de la colonisation du *Candida* et de la candidose symptomatique chez les femmes HIV séropositive ou négative montre que l'incidence de la l'infection est largement associée à la charge virale et à un déficit immunitaire (faible taux des cellules CD4+)[75].

- Facteurs génétiques

Il existe de façon empirique un risque de sensibilité accrue aux vaginites à *Candida* avec l'existence d'antécédents familiaux. Certaines études tendent à corréliser ces observations avec la production de certaines protéines intervenant dans les phénomènes d'adhérence cellulaire. [73]

- 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.

- 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.

II.C.3.c Le diagnostic des vaginites à Candida

Comme les manifestations cliniques ne sont pas spécifiques, le diagnostic repose sur une combinaison des critères cliniques et mycologiques.

II.C.3.c.i les critères cliniques :

Les signes d'appels d'une candidose sont généralement un prurit vulvaire, une brûlure vaginale, des leucorrhées blanchâtres abondantes, une dysurie et une dyspareunie. L'examen clinique permet d'observer en général un œdème et une crevasse de la vulve, une muqueuse vaginale inflammatoire recouverte de pseudomembranes blanches ayant l'aspect de « lait caillé ».

II.C.3.c.ii les critères mycologiques :

Un prélèvement vaginal est réalisé à l'aide d'un écouvillon au niveau des parois vaginales et du cul de sac ensuite analysé selon les examens mycologiques suivants :

- la mesure du pH vaginal. Un pH normal varie entre 4 et 4,5.
- l'examen direct est réalisé avec du sérum physiologique ou une solution KOH 10 % qui est plus sensible (65 à 85 %) dans la détection des blastospores levures ou des mycéliums. La coloration de Gram ainsi que celle au chlorure de méthylrosaniline sont deux méthodes efficaces ayant une sensibilité et spécificité respective de 65, 100 % et 88,3, 96,1 %. L'observation à l'état frais après coloration permet la visualisation des levures sous forme blastospore et/ou pseudo-filamenteuse (ou filamenteuse) (Figure 22).

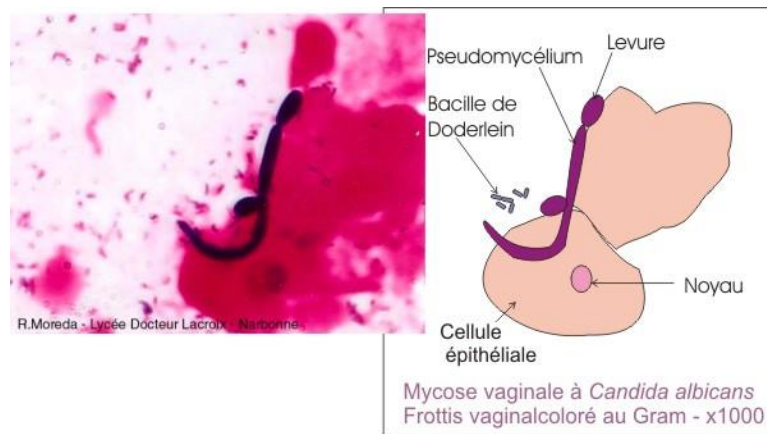


Figure 19: mycose vaginale à *C. albicans*[76]

- la culture se révèle la méthode la plus sensible dans la détection des levures du genre *Candida*. Elle est réalisée sur des milieux solides (Sabouraud agar ou YPG [yeast peptone glucose]) et incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures. Il est préférable d'ensemencer les prélèvements sur des milieux chromogènes (exemple : Chromagar Candida), qui permettent l'identification rapide de l'espèce et la détection des associations surtout en présence d'une infection compliquée. Les colonies de *Candida* apparues après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C mesurent quelques millimètres de diamètre. Sur le milieu de Saboureaux, elles sont plutôt blanchâtres, leur surface est lisse, brillante et luisante, ou plus rarement, croûteuse, terne, sèche, mate, ou ridée. La croissance sur milieu chromogène leur donne des colorations spécifiques en fonction des espèces. [77]

Une culture positive ne signifie pas une candidose puisque 10 à 25 % des femmes qui en ont une sont asymptomatiques. Donc, le diagnostic requiert une corrélation des signes cliniques, de l'examen microscopique et de la culture.

L'identification des levures peut se faire sur des galeries comportant chacune un substrat carboné sous forme déshydratée (ID32 C, Biomérieux). Le principe de ce test repose sur la croissance de la levure après 24 à 48 heures suite à l'assimilation d'un substrat donné.

En cas de vaginites à *Candida*, l'indication de la réalisation d'un test de sensibilité aux antifongiques est discutée. Il pourrait être indiqué en cas d'anomalie immunologique chronique ou d'isolement répété de *C. non albicans*. Le tableau suivant indique la sensibilité des souches de *Candida* aux différents antibiotiques.

Tableau 14: sensibilité des espèces candida aux antifongiques [71]

	Candida albicans	Candida tropicalis	Candida parapsilosis	Candida glabrata	Candida krusei	Candida lusitanae
Fluconazole	S	S	S	S-DD à R	R	S
Itraconazole	S	S	S	S-DD à R	S-DD à R	S
Voriconazole	S	S	S	S I	S à I	S
Flucytosine	S	S	S	S	I à R	S
Amphotéricine B	S	S	S	S à I	S à I	S à R
Echinocandins	S	S	S	S	S	S

S : sensible ; S-DD : sensible dose-dépendante ; I : intermédiaire ; R : résistant.

II.C.3.d **Traitement**

Pour une prise en charge thérapeutique adaptée au diagnostic, il faudra distinguer :

- les vaginites à *Candida* simples, non compliquées : caractérisées par un épisode sporadique, des signes cliniques modérés, une prévalence de *C.albicans* et une survenue chez des femmes sans terrain sous-jacent ;
- les vaginites à *Candida* compliquées : regroupant au moins une des situations suivantes : une candidose récidivante, une symptomatologie sévère, une prévalence des espèces non *albicans*, ou un terrain sous-jacent (diabète non contrôlé, grossesse, une immunodépression (HIV+, corticothérapie...)).

II.C.3.d.i Cas de figure simple :

La CVV simple ou non compliquée, retrouvée chez 90% des patientes, est traitée avec succès en utilisant soit un traitement par voie générale de courte durée soit des antifongiques locaux pendant un à sept jours disponibles sous forme de crème vaginale, lotion, comprimé, suppositoire ou tampon enrobé.

Les préparations intravaginales de butaconazole, clotrimazole, miconazole et tioconazole sont accessibles en vente libre (OTC). Leur utilisation inappropriée est fréquente et peut entraîner un retard dans le traitement des vaginites ayant d'autres étiologies.

Les dérivés azolés présentent un taux de rétablissement clinique et mycologique de 85 à 90 % qui paraît plus efficace que les polyènes (ex : Nystatine, 75–80 %). Il ne semble pas y avoir de différence d'efficacité entre les traitements topiques et par voie générale. L'avantage du traitement *per os* est son utilisation en dose unique permettant un soulagement rapide, une meilleure compliance et l'absence d'effets locaux indésirables possibles. La prescription d'itraconazole (Sporanox®) 200 mg/j pendant trois jours, de kétoconazole (Nizoral) 400 mg/j pendant cinq jours et de fluconazole (Triflucan®) 150 mg/j (dose unique) ainsi que l'administration intravaginale d'acide borique sous forme de capsule à 600 mg/j pendant 14 jours aboutit à un rétablissement clinique et mycologique d'un épisode aigu. Dans le tableau ci-dessous sont indiquées les molécules antimycosique utilisables dans le traitement des mycoses vulvovaginales.[72,73,78].

Tableau 15: Antifongiques à usage local [72]

Nitro5 Imidazolés		
Nom	Concentration	SI grossesse
Fazol® G ovule	300 mg (isoconazole)	ND*
Fongarex® ovule	900 mg (omoconazole)	CI** 1 ^{er} trimestre
Gyno-Daktarin® capsule molle vaginale	100 mg (miconazole) 400 mg	Oui, si nécessaire
Gyno-Pévaryl® ovule	150 mg (éconazole)	CI sauf nécessité
Gyno-Pévaryl® LP ovule	150 mg	
Lomexin® capsule vaginale	600 mg (fenticonazole)	CI sauf nécessité
Monazole® ovule	300 mg (sertaconazole)	CI sauf nécessité
Myleugyn® LP ovule	150 mg	CI sauf nécessité
Tertomexin® capsule vaginale	200 mg (ferticonazole)	CI
Antifongique + antibactériens + anti-trichomonas		
Polygynax® capsule vaginale néomycine 35 000 UI + polymyxine 35 000 UI + nystatine 100 000 UI (déconseillé pendant grossesse)		
Polygynax Virgo® capsule vaginale <i>idem</i> (pas de donnée pour grossesse)		
Tergynan® capsule vaginale métronidazole 500 mg + néomycine 65 000 UI + nystatine 100 000 UI (déconseillé pendant grossesse)		
Génériques		
Éconazole 150 LP : ADS Pharma, Arrow, EG LP, Keller Pharma, Merck LP, Gualimed LP Ranbaxy LP, Ratiopharm LP, Sandoz LP, Teva LP, Winthrop LP Gynopévaryl® 150 mg ovules LP Myleugyn® LP 150 mg		

* ND = non précisé.

** CI = contre-indiqué.

II.C.3.d.ii Vulvo-vaginites compliquées :

Pour les cas compliqués, la stratégie thérapeutique recommandée est l'association d'un traitement d'attaque suivi d'un traitement d'entretien. Le traitement d'attaque prescrit pour les candidoses récidivantes est efficace soit avec des antifongiques azolés topiques pendant sept à 14 jours, soit du fluconazole (Triflucan®) par voie générale (100 mg, 150 mg ou 200 mg) en trois doses séquentielles chaque trois jours (premier, quatrième, septième). En cas d'isolement de *C. non albicans* et notamment de *C. glabrata*, l'administration intravaginale de capsule d'acide borique 600 mg/j pendant 14 jours ou d'amphotéricine B en suppositoires est efficace avec un taux d'éradication de 70 %.

En cas de rechute, la prescription du flucytosine (Ancotil®) 17 % topique pendant deux semaines réussit à éliminer l'infection dans plus de 90 % des cas. Son utilisation locale doit être minimale afin de réduire le risque d'acquisition de résistance.

En cas de vaginite provoquée par *C. krusei*, espèce résistante au flucytosine et au fluconazole, il est possible de traiter par l'acide borique ou des azolés autre que le fluconazole. Une thérapie d'entretien est essentielle pour la réduction de l'incidence des récurrences. En cas d'arrêt de ce dernier, une rechute survient chez 30 à 50 % des patientes dans les trois mois suivants. Plusieurs protocoles ont été proposés tels que la prise journalière du fluconazole (100 mg, 150 mg ou 200 mg) chaque semaine pendant six mois ou du kétoconazole (100 mg/j

mais présente un risque hépatotoxique) ou de l'itraconazole (100 mg/j) ou du clotrimazole (200 mg/ suppositoire) deux fois par semaine ou du clotrimazole (500 mg/ suppositoire) une fois par semaine.

Le fluconazole interagissant peu avec le cytochrome P450 (itraconazole et kétoconazole sont des inhibiteurs) il sera à utiliser en première intention. Les effets secondaires de ces traitements sont semblables à ceux des nitr-5-imidazolés (cf traitements de la vaginose non spécifique).

II.C.1 Les infections sexuellement transmissibles

II.C.1.a La vaginite à Trichomonas

II.C.1.a.i Epidémiologie

Trichomonas vaginalis est un protozoaire flagellé, mobile, extracellulaire, anaérobie. Parasite strictement humain, il n'existe que sous forme végétative. Il est très sensible à la dessiccation et meurt rapidement dans le milieu extérieur. Sa transmission d'un individu à un autre ne peut s'effectuer qu'en milieu humide.

L'OMS a évalué l'incidence de l'infection par *Trichomonas vaginalis* en 1999 à 173 millions de nouveaux cas/an, la classant comme première cause de maladie sexuellement transmissible dans le monde. En fonction des régions et des types de populations, la prévalence de l'infection est très variable mais souvent sous-estimée car le parasite est insuffisamment recherché et beaucoup de méthodes diagnostiques manquent de sensibilité. Il n'existe pas de système de surveillance en France pour cette pathologie, l'infection étant habituellement bénigne et les complications exceptionnelles. Cependant, l'infection est à risque lors de la grossesse, favorisant fausse couche et accouchement prématuré. Son rôle assuré dans la transmission du VIH a été démontré dans les zones de forte endémie. Le taux de transmission au cours des rapports sexuels est très élevé surtout de l'homme à la femme. La transmission non sexuelle est exceptionnelle.[79]

II.C.1.a.ii Clinique

T. vaginalis vit dans les cellules épithéliales squameuses de la paroi antérieure du vagin, dans les glandes de Skene et l'urètre. Sa multiplication est encouragée par le déséquilibre en œstrogènes qui favorise l'atrophie épithéliale vaginale et le développement d'un milieu alcalin et la disparition de la flore de Döderlein. Les contraceptifs oraux semblent jouer un rôle directement protecteur. Il est fréquemment associé aux vaginoses bactériennes. Son incubation dure entre 4 et 28 jours. Dans 15 à 25 % des cas, l'infection est asymptomatique.

Les formes subaiguës sont les plus fréquentes et représentent 60 à 70 % des cas. Elles donnent des tableaux de vaginite associant des leucorrhées, souvent des signes d'urétrite, un prurit et sont alors inconfortables. Les leucorrhées sont plus ou moins abondantes, parfois jaunes ou vertes, quelquefois spumeuses et malodorantes. La colposcopie peut mettre en évidence des signes de colpite (inflammation du col) focale framboisée ou en macules « léopard » dans

environ la moitié des cas. Ces signes ne sont que très rarement perçus à l'examen simple du col. Il n'y a pas d'atteinte de l'endocol donc pas à proprement parler de cervicite. (figure 23)



Figure 20: aspect du col dans l'infection à *T. vaginalis* [79]

Les formes aiguës sont rares, moins de 10 % des cas. Les leucorrhées sont très abondantes, mousseuses et aérées, jaunâtres, blanchâtres ou verdâtres, avec une odeur de plâtre frais. Le prurit est intense associé à une dyspareunie, des troubles urinaires tels que cystalgies, brûlures, pollakiurie. Dans ces formes, une réelle cervicite est possible.

Au total, *T. vaginalis* serait retrouvé dans 10 % des vaginites. Des formes urinaires isolées sont possibles, plutôt chez la femme ménopausée. Les complications sont extrêmement rares : skénite, bartholinite, vaginite emphysémateuse, endométrite et atteinte des annexes.

Au cours de la grossesse, les infections symptomatiques peuvent entraîner fausse couche, rupture prématurée des membranes, hypotrophie ou prématurité.

II.C.1.a.iii Diagnostic

Le diagnostic de certitude biologique repose sur la qualité du prélèvement local. Il se fait sur un écouvillon stérile imprégné de sérum physiologique devant être acheminé sans délai au laboratoire.

Chez la femme, le prélèvement est effectué sur les leucorrhées et dans le cul-de-sac postérieur. La glaire cervicale doit être prélevée avant toute toilette intime et tout traitement, avec si possible 24 à 48 heures d'abstinence avant le prélèvement. Le prélèvement peut se faire aussi à l'urètre mais pas sur les urines où l'examen manque de sensibilité.

L'examen direct des sécrétions à l'état frais se fait après dilution dans une goutte de sérum physiologique entre lame et lamelle. Il présente une sensibilité d'environ 60 %, qui varie de 40 à 80 %, en fonction de la taille de l'inoculum, du maintien de l'humidité de l'écouvillon, du délai du transport et de l'expérience de l'observateur. L'efficacité de cette technique repose sur la mobilité du parasite qui a la taille d'un lymphocyte. Parmi les techniques de coloration,

l'immunofluorescence à l'acridine orange a la meilleure sensibilité et une bonne spécificité. La technique de référence est encore la culture sur milieux spécifiques (Roiron ou Diamond) dont la spécificité est de 100 % et la sensibilité supérieure à celle de l'examen direct et des techniques de coloration. Le délai d'attente est de 3 à 7 jours. La contamination bactérienne peut poser problème. Plusieurs protocoles ont été publiés pour détecter l'ADN de *T. vaginalis* par PCR sur prélèvement cervicovaginal. La sensibilité apparaît nettement supérieure à celle de la culture avec une spécificité qui reste proche de 100 %. La répétition des prélèvements augmente encore cette sensibilité. En pratique, aucun réactif n'est actuellement commercialisé en France.[80]

II.C.1.a.iv Traitement

Il est consensuel :

- métronidazole (Flagyl®) per os : 2 g, dose unique ;
- ou nimorazole (Naxogyn®) per os : 2 g, dose unique ;
- ou métronidazole : 500 mg, 2 fois/j per os pendant 7 jours.

La prise d'alcool est déconseillée en raison de l'effet antabuse. Le traitement du ou des partenaires est indispensable compte tenu de la très forte transmissibilité. Il doit toujours être réalisé simultanément. La guérison est obtenue dans 90 à 95 % des cas.

Les rares échecs peuvent être dus à une sensibilité diminuée au métronidazole. Les tests de résistance in vitro aux antiparasitaires sont mal corrélés à la réponse clinique et ne sont plus recommandés. Le protocole de traitement propose de renouveler une cure de métronidazole 500 mg 2 fois/j pendant 7 jours, et en cas de nouvel échec : 2 g/j pendant 3 à 5 jours.

Le tinidazole (Fazigyne 500®) peut avoir une efficacité sur certaines souches résistantes au métronidazole. Plusieurs protocoles existent. Le plus courant administre 2 g/j pendant 2 jours. Certains protocoles envisagent des cures plus longues.

En cas de nouvel échec, il est possible de répéter la cure en associant traitement local et per os par métronidazole ; au besoin, elle est renouvelable chaque mois pendant 6 mois sous surveillance neurologique et de l'hémogramme. Il faut dans tous les cas s'assurer de l'efficacité du traitement du ou de la partenaire qui dans ces cas est presque toujours asymptomatique.

Pour la femme enceinte, ne traiter que si l'infection est symptomatique car alors les phénomènes inflammatoires locaux exposent au risque de fausse couche ou d'accouchement prématuré. Le métronidazole per os dose unique 2 g est préféré au traitement local dont le taux d'efficacité est inférieur à 50 %. Aucun effet tératogène humain du métronidazole n'a été démontré à ce jour par les méta-analyses.

En cas d'allaitement, il faut privilégier le métronidazole per os dose unique 2 g, en suspendant l'allaitement 24 heures.

En cas d'allergie aux nitro-imidazolés, il n'y a pas d'alternative thérapeutique efficace. Le taux de guérison spontané serait d'environ 20 %. (cf les traitements de la vaginose bactérienne pour les effets secondaires).

II.C.1.b Infections à Chlamydia trachomatis

II.C.1.b.i Epidémiologie

L'infection à *Chlamydia trachomatis* urogénitale est l'infection sexuellement transmissible bactérienne la plus fréquente en France. Contrairement aux autres IST l'infection à chlamydia est endémique. Les personnes atteintes sont le plus souvent asymptomatiques et transmettent de ce fait l'infection à leur partenaire lors de rapports sexuels non protégés. En l'absence de traitement antibiotique, le portage de la bactérie peut être très long (plus d'un an) avec risque de transmission à tous les partenaires sexuels. Cette infection concerne principalement la population sexuellement active de 18 à 29 ans où la prévalence est de 2,6 %, alors qu'elle est de 0,5 % de 30 à 44 ans. [81]

II.C.1.b.ii Manifestations cliniques

C. trachomatis est responsable de cervicite chez la femme et d'urétrite chez l'homme (voir tableau suivant). Cependant, ces infections sont peu ou non symptomatiques chez 70 % des femmes et 50 % des hommes.[82] (Tableau 16)

Tableau 16: manifestations cliniques des infections à *C. trachomatis* [82] (LGV : lymphogranulome vénérien)

Sérovars	Manifestations cliniques	Complications
A-C	Kératoconjonctivite	Trachome cicatriciel, cécité
D-K	H : urétrite, proctite F : cervicite, urétrite, proctite	Épididymite Endométrite Salpingite Douleurs pelviennes Grossesse extra-utérine Périhépatite (syndrome de Fitz-Hugh-Curtis) Infertilité
	H + F : conjonctivite	Syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter Arthrite réactionnelle
L	LGV	-

- Chez l'homme :



Chlamydia Urethritis(Male)

C. trachomatis est la principale cause d'urétrite non gonococcique ou post-gonococcique. L'urétrite peut se compliquer d'orchépididymite chez l'homme jeune. Dans la majorité des cas, elle se présente comme une urétrite subaiguë avec un écoulement peu abondant, séreux, spontané ou provoqué à la pression du canal urétral, se limitant parfois à une simple goutte matinale illustré ici.

Figure 21: écoulement anormal par infection à *C. trachomatis* chez l'homme [83]

Dans 15 à 20 % des cas, l'urétrite à *C. trachomatis* se présente comme une urétrite aiguë avec un écoulement abondant, purulent, accompagné de vives brûlures mictionnelles et quelquefois d'hémorragies. La période d'incubation peut aller de 48 heures à plus de 2 mois (12 à 16 jours en moyenne) après le contact infectant.

Une complication observée préférentiellement chez l'homme mais qui peut se voir aussi chez la femme est le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter (FLR). Le classique syndrome de FLR consiste en une triade de symptômes, arthrite, conjonctivite et urétrite. Ce syndrome peut se développer à la suite d'infections causées par d'autres bactéries colonisant les muqueuses comme les *Yersinia*, *Shigella*, *Salmonella*... et plus particulièrement chez les patients possédant l'antigène HLA B27.

Dans l'ensemble, les séquelles d'infection chez l'homme, restent mineures et rares, comparativement à celles observées chez la femme.

- Chez la femme :

L'infection réalise le plus souvent une cervicite asymptomatique. Elle est la plupart du temps de découverte fortuite lors d'un bilan gynécologique systématique ou à l'occasion d'une consultation motivée par l'apparition de symptômes chez le partenaire. La cervicite varie dans son intensité. Le col est souvent œdématisé, congestif et friable. Cette localisation cervicale peut s'accompagner d'une localisation urétrale sans pour autant entraîner d'urétrite ou de dysurie. Une leucocyturie amicrobienne isolée doit évoquer la possibilité d'une infection à *Chlamydia*.



Figure 22: col infecté par *Chlamydia trachomatis* [84]

L'infection cervicale de la femme enceinte augmente le risque de développer une endométrite post-partum caractérisée par son développement tardif 2 à 6 semaines après la naissance. Ces affections apparaissent chez 22 % des femmes ayant une infection à *C. trachomatis* contre 5% chez les femmes non infectées et sont associées à un accouchement par voie basse.

Le nouveau-né peut être contaminé par *C. trachomatis* principalement lors du passage de la filière génitale à partir de l'infection cervicale maternelle. Le taux de contamination à la naissance est élevé, de 50 à 70 %. Parmi les nouveau-nés contaminés, plus de 50 % présentent une conjonctivite, environ 20 % une pneumopathie, les autres restant asymptomatiques.

Les salpingites constituent la complication majeure de la cervicite à *C. trachomatis*. L'endométrite la précède ou y est associée. Il peut s'agir de salpingites aiguës, subaiguës ou chroniques infracliniques. Ces dernières ne sont révélées que par leurs conséquences :

stérilité, GEU (grossesse extra-utérine), douleurs pelviennes chroniques. À partir de l'infection utéro-tubaire, *C. trachomatis* peut gagner la région périhépatique et provoquer un syndrome de Fitz-Hugh-Curtis. Chez l'homme et la femme, cette bactérie est responsable de conjonctivites isolées par auto-inoculation à partir d'un foyer génital.

II.C.1.b.iii Caractéristiques bactériologiques

La bactérie existe essentiellement sous deux formes, le corps élémentaire (CE) et le corps réticulé (CR). Le CE adapté au transit extracellulaire est incapable de se multiplier et constitue la forme infectieuse. Le CR, adapté au milieu intracellulaire, est non infectieux et constitue la forme métaboliquement active de la bactérie.

Le cycle de développement fait intervenir plusieurs étapes décrites dans la figure suivante.

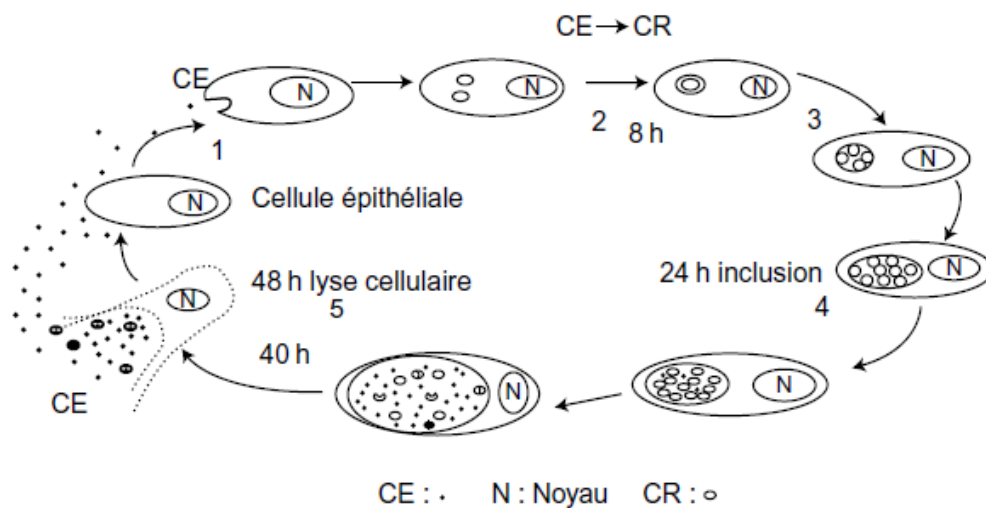


Figure 23: Cycle de développement des chlamydias[82]

CE : corps élémentaire, CR : corps réticulé. Après attachement du CE à la paroi de la cellule épithéliale (1) et pénétration au sein d'une vacuole (1), le CE se transforme en CR (2) qui se multiplie (3). Chaque CR néoformé se transforme en CE (4). Les CE sont libérés lors de la lyse cellulaire (5)

Dans certaines conditions, le cycle de développement est altéré, le CR ne se transforme pas en CE mais persiste dans une forme altérée, appelée corps aberrant. Le terme de persistance correspond à une association bactérie-hôte dans laquelle la bactérie est viable mais non cultivable.

In vitro, des facteurs induisant la persistance ont pu être identifiés. Il s'agit d'antibiotiques comme la pénicilline G, de facteurs d'ordre nutritionnel et immunitaire (présence d'interféron gamma (IFN γ)).

In vivo, les implications sont importantes et contribueraient à l'immunopathogénicité de la maladie. Cette notion de persistance a des conséquences sur le diagnostic et le traitement. Les outils de diagnostic permettent généralement de mettre en évidence la bactérie dans sa forme normale et cultivable et non dans cette forme aberrante. Seules les techniques de biologie moléculaire permettent d'identifier la bactérie et de poser le diagnostic. Concernant le

traitement, les formes persistantes ne répondent pas aussi bien aux antibiotiques que les formes normales. En effet, les premières contiennent des taux réduits de la principale protéine de membrane appelée MOMP (major outer membrane protein), d'où une diminution du transport des antibiotiques et une sensibilité réduite à leur action.

II.C.1.b.iv Les techniques d'analyses biologiques

Le tableau suivant indique les différents prélèvements et les techniques d'identifications associées. Il est important de noter que les prélèvements les plus qualitatifs sont pour l'homme l'écouvillonnage urétral (mais douloureux et mal supporté) et l'auto-écouvillonnage vaginal chez la femme. (Tableau 17) [82]

Tableau 17: avantages et limites des principaux échantillons urogénitaux [82]

Sexe	Échantillons	Avantages	Limites	Techniques utilisables
Homme	Écouvillon urètre	Sensibilité	Invasif, mal supporté	Toutes
	Urine	Non invasive Autoprélevé	Sensibilité moindre	BM** Certains Elisa
	Écouvillon pénis	Non invasive Autoprélevé	Sensibilité faible	BM
Femme	Écouvillon col	Sensibilité	Invasif	Toutes
	Écouvillon urètre*	Sensibilité	Invasif	Toutes
	Urine	Non invasif Autoprélevé	Sensibilité moindre	BM
	Écouvillon vagin	Non invasif Autoprélevé Sensibilité		BM

* Seulement en association avec l'écouvillonnage du col et en cas d'urétrite associée.

** BM : tests de biologie moléculaire avec amplification.

- La culture cellulaire

La culture cellulaire reste la méthode de référence avec une spécificité de 50 à 90 %. Il faut noter également que certains prélèvements se révèlent inadéquats pour la culture comme le sperme, les urines et souvent les liquides péritonéaux et articulaires. Elle est de plus en plus délaissée au profit de techniques plus sensibles.

- Les techniques antigéniques

Le test direct sur frottis et les tests Elisa et apparentés ont une spécificité qui dépend de la nature monoclonale ou polyclonale des anticorps utilisés et des antigènes vers lesquels ils sont dirigés, MOMP (spécificité d'espèce) et/ou LPS (lipopolysaccharide ; spécificité de genre).

Le test direct consiste à étaler l'échantillon prélevé par écouvillonnage sur une lame. L'examen de la lame, ensuite colorée par des anticorps fluorescents, révèle des CE extracellulaires, exceptionnellement des inclusions, sur un tapis de cellules épithéliales, témoins de la qualité du prélèvement. L'automatisation de la lecture de la plupart des tests Elisa et apparentés permet un résultat objectif. Les inconvénients majeurs de ces tests sont leur manque de sensibilité et parfois leur manque de spécificité. Un test de confirmation devrait être systématiquement pratiqué.

- Les techniques de biologie moléculaire

Les sondes d'hybridation sans amplification malgré des performances équivalentes aux techniques antigéniques souffrent d'un manque de sensibilité les rendant insuffisantes sur les échantillons non invasifs.

Étant données leurs excellentes performances en sensibilité et spécificité, les tests d'amplification sont les techniques de choix pour le diagnostic et le dépistage de l'infection à *C. trachomatis*. Plusieurs tests sont commercialisés utilisant des principes différents : PCR et PCR en temps réel (Roche, Abbott, Qiagen), SDA (strand displacement amplification – Becton Dickinson), TMA (transcription mediated amplification – Gen-Probe), NASBA (nucleic acid sequence based amplification – bioMérieux). Les cibles sont variées, soit des gènes multiples comme le plasmide cryptique présent en 5 à 10 copies (Roche, Abbott) et l'ARN ribosomique (Gen-Probe, bioMérieux), soit un gène unique comme le gène *omp1* codant la MOMP (Qiagen). Ces techniques présentent l'avantage d'être automatisées, ce qui diminue le risque de contamination. Les principaux inconvénients sont le coût, la sensibilité aux inhibiteurs et la spécificité de la cible. [82]

- Système de typage et sérodiagnostic

L'identification des sérovars de *C. trachomatis* présente un intérêt épidémiologique et au niveau individuel permet de différencier les recontaminations des rechutes dans la mesure où les deux souches isolées n'ont pas le même. Le sérotypage a été réalisé grâce à des anticorps monoclonaux reconnaissant des épitopes portés par la MOMP.

Il consiste en la mise en évidence des anticorps circulants par la technique de MicroImmunoFluorescence (MIF). Les techniques immuno-enzymatiques ont l'avantage d'être plus spécifiques, rapides, automatisées et de lecture objective. Cependant, l'appréciation quantitative n'est pas bien codifiée. D'une manière générale, la recherche d'anticorps anti-*C. trachomatis* n'a pas la même valeur diagnostique que la mise en évidence de la bactérie en raison de la persistance des anticorps des mois, voire des années après l'infection.

Dans les infections génitales basses, le sérodiagnostic a peu d'intérêt car l'infection restant superficielle, le taux d'anticorps est faible. En revanche, dans les infections profondes à *C. trachomatis*, le sérodiagnostic prend tout son intérêt étant donné l'accessibilité difficile du site infectieux chez l'homme comme chez la femme. Un taux élevé d'IgG ou d'Ig totales ($> 1/64$) est significatif d'une infection passée ou en cours.

L'ensemble des techniques abordées est résumé dans le tableau 18.

Tableau 18: diagnostique direct de *C. trachomatis* [82]

Méthodes		Temps	Avantages	Limites
Culture cellulaire		72 h	Spécificité, souche	Sensibilité 80–85 %
Détection antigénique	IFD	45 min	Simple, test unitaire	Sensibilité 75–80 % Lecture subjective
	Elisa	4 h	Automatisation, coût	Sensibilité 75–80 %
	Test sur membrane	30 min	Test unitaire	Faible spécificité (test de confirmation)
Biologie moléculaire	Sonde	2 h	Facile à faire	Sensibilité 75–80 %
	Amplification (PCR temps réel, SDA, TMA, NASBA)	2–4 h	Sensibilité > 95 % Spécificité > 99 %	Contamination Coûteux Préparation de l'échantillon

PCR : *polymerase chain reaction* ; SDA : *strand displacement amplification* ; TMA : *transcription mediated amplification* ; NASBA : *nucleic acid sequence based amplification*.

II.C.1.b.v Traitements

Peu d'antibiotiques sont naturellement actifs sur *C. trachomatis*. Parmi ceux potentiellement actifs, se trouve dans un ordre d'activité décroissante in vitro, la rifampicine avec les CMI (concentration minimales inhibitrices) les plus basses, les tétracyclines, notamment la minocycline (Minolis®) et la doxycycline (Tolexine®, Granudoxy®), les fluoroquinolones les plus récentes (moxifloxacine, Izilox®), les macrolides vrais (érythromycine, Ery®, roxithromycine, Rulid®, azithromycine, Zithromax®) et certaines fluoroquinolones moins récentes (ofloxacine, Oflocet®, ciprofloxacine, Ciflox®).

Les *Chlamydia* présentent une résistance naturelle aux aminosides, à la vancomycine, aux quinolones de première génération, au métronidazole et à la colimycine. Parmi les β -lactamines, seule la pénicilline G et l'amoxicilline présentent une certaine activité qualifiée de paradoxale puisque la bactérie est dépourvue de peptidoglycane.

Suivant les recommandations récentes de l'ANSM, le traitement de première intention des infections urogénitales non compliquées fait appel à l'azithromycine en « traitement minute » à la dose de 1 g per os en une seule prise ou à la doxycycline 100 mg per os, 2 fois/j pendant 7 jours. L'azithromycine en dose unique, de par sa grande pénétration tissulaire, ses taux sériques bas et sa longue durée de vie, constitue l'antibiotique de choix en générant moins d'effets indésirables que la doxycycline, et en assurant une meilleure observance. Les alternatives thérapeutiques reposent sur l'érythromycine base (500 mg, 2 fois/j pendant 7 jours) ou l'éthylsuccinate d'érythromycine (800 mg, 4 fois/j pendant 7 jours) ou l'ofloxacine (300 mg, 2 fois/j pendant 7 jours). Chez la femme enceinte, l'amoxicilline a été proposée mais, à l'heure actuelle, c'est l'azithromycine qui est recommandé. Il est indispensable de traiter parallèlement le(s) partenaire(s) et d'avoir des relations sexuelles protégées pendant le traitement. Les infections génitales hautes se traitent plus longtemps que les infections basses, pendant 14 à 21 jours. La possibilité de persistance de l'infection après traitement justifie la

mise en place d'un contrôle post-thérapeutique par recherche directe de la bactérie à distance du traitement (5 semaines).

II.C.1.c Infections à *Neisseria gonorrhoeae*

II.C.1.c.i Epidémiologie

L'incidence des gonorrhées a tendance à augmenter depuis 1998. Elle est plus forte chez les hommes que chez les femmes et en Ile-de-France qu'ailleurs en France. L'âge médian est de 31 ans chez les hommes et de 22 ans chez les femmes. Les principaux sites d'infection à gonocoques sont l'urètre chez les hommes et le col et le vagin chez les femmes. Le portage pharyngé est fréquent chez les homo ou bisexuels ayant des rapports orogénitaux non protégés.[83]

II.C.1.c.ii Physiopathologie

Les gonococcies sont dues à *Neisseria gonorrhoeae*, bactérie Gram négatif, se présentant sous forme de diplocoques encapsulés, cytochrome oxydase positifs, immobiles et asporulés essentiellement intracellulaires (dans les polynucléaires) et de transmission uniquement sexuelle. L'incubation est courte (en général, 2 à 5 jours).

- Urétrite gonococcique masculine

L'urétrite masculine aiguë est typiquement très symptomatique avec écoulement purulent jaune verdâtre, méatite œdémateuse, dysurie marquée (chaude-pisse) et rarement adénopathies inguinales, mais sans fièvre. 90% des gonococcies s'accompagnent d'un écoulement urétral, plus souvent purulent que clair. Beaucoup plus rarement, il n'existe que des signes fonctionnels sans écoulement et, exceptionnellement des cas asymptomatiques



Figure 24: urétrite purulente due à *N. gonorrhoeae* chez l'homme [86]

Des complications locales sont possibles, mais anecdotiques (infections des glandes de Littre, de Tyson et de Cowper, balanite, abcès péri-urétraux, etc). Une prostatite aiguë est possible ainsi qu'une épидидymite ; toutes deux exceptionnelles. Les rétrécissements urétraux post-blennorragie ne se voient plus.

- Gonococcie féminine

L'infection gonococcique féminine est symptomatique dans moins de la moitié des cas, se manifestant soit par des leucorrhées plus ou moins abondantes et rarement purulentes, soit

par des symptômes urétraux à type de brûlures mictionnelles et de dysurie quand l'infection s'étend à l'appareil urinaire.



Figure 25: infection à gonocoque chez une femme [86]

À l'examen au spéculum, il existe, le plus souvent, une cervicite avec col érythémateux, friable et écoulement muco-purulent, parfois hémorragique. L'importance de l'inflammation du col et des leucorrhées conditionne l'existence ou non de symptômes. Le col peut être aussi parfaitement normal. Des complications sont possibles (infections des glandes de Skene, bartholinite et surtout salpingite aiguë fébrile).

II.C.1.c.iii Diagnostic microbiologique

- Examen direct

L'examen direct est la première étape : le frottis est étalé sur une lame et coloré au bleu de méthylène ou à la coloration de Gram. En cas d'urétrite masculine, le prélèvement se fait à partir de l'écoulement urétral (prélèvement au méat). Chez la femme, l'écouvillonnage se fait à l'endocol et au méat urétral (il est classique d'associer un prélèvement à ces deux sites).

La sensibilité de l'examen direct par rapport à la culture est proche de 100 % dans l'urétrite masculine avec écoulement (ce qui est le cas de la grande majorité des urétrites gonococciques). Une quasi-certitude d'infection gonococcique est apportée par la découverte de diplocoques extra- et surtout intracellulaires Gram négatif. La seule présence de diplocoques extracellulaires n'apporte qu'un élément de présomption (il peut s'agir aussi de *Neisseria* saprophytes). En revanche, du fait de la richesse de la flore cervicovaginale, l'examen direct de l'endocol est difficile à lire et sa sensibilité pour le diagnostic d'une gonococcie ne dépasse pas 20 à 30 %. La sensibilité est encore plus faible au niveau du pharynx et du rectum, si bien que le frottis pharyngé et le frottis anorectal sont sans intérêt.

- Cultures

Elles sont toujours indispensables. C'est la seule manière de faire le diagnostic de certitude dans les gonococcies féminines, pharyngées et anorectales, mais également nécessaires dans l'urétrite masculine pour isoler les souches et étudier leur sensibilité aux antibiotiques. Le gonocoque est une bactérie fragile nécessitant un prélèvement au laboratoire, des milieux de croissance spécifiques, en général, des géloses au sang cuit (milieu de Thayer-Martin) sans adjonction d'antibiotiques (milieu de croissance) et avec adjonction d'antibiotiques (milieu de sélection), additionnés de différentes molécules, en particulier de

vancomycine, colimycine, néomycine, amphotéricine B, triméthoprime, etc. (milieux VCN, VCAT).

Les cultures doivent être incubées en milieu riche en CO₂. Les colonies poussent rapidement, en 24 à 48 heures. L'identification précise est faite par galerie biochimique. La recherche de pénicillinase est systématique ainsi que l'antibiogramme.

- PCR

Il existe plusieurs tests d'amplification moléculaire de *Neisseria gonorrhoeae* dont certains sont couplés à l'amplification de *Chlamydia trachomatis*. Certaines PCR semblent plus sensibles que la culture pour le diagnostic des gonococcies féminines, en particulier. Les techniques d'amplification ne permettent en revanche pas de réaliser les tests de sensibilité aux antibiotiques. Enfin, signalons qu'il n'existe pas de sérologie fiable des gonococcies.

II.C.1.c.iv Traitements des gonococcies

- Traitement de première intention

10 à 20% des souches de gonocoques sont, actuellement, productrices de pénicillinase en France. Plus de 50 % sont hautement résistantes aux fluoroquinolones. Les seuls antibiotiques utilisables, en première intention, efficaces sur toutes les souches de gonocoque sont les céphalosporines de troisième génération insensibles à la pénicillinase : la ceftriaxone (Rocéphine® : 500mg en une injection intra-musculaire unique) et le céfixime (Oroken® : une prise unique per os de 400 mg).

- Traitement de deuxième intention

Les traitements sont en cas d'impossibilité d'utiliser les céphalosporines de troisième génération du fait d'une allergie aux bêta-lactamines : [83,84]

- La spectinomycine (Trobicine®) s'utilise en une injection unique intramusculaire de 2 g. Il s'agit d'un aminoside avec peu d'effets secondaires et d'un coût modéré. Cependant, malgré l'absence de résistances, il y a environ 10 % d'échecs probablement par mauvaise biodisponibilité. De plus, la spectinomycine est totalement inefficace sur les gonococcies pharyngées ;

- la ciprofloxacine (Cifloxs®) s'utilise en une prise orale unique de 500 mg. Son efficacité sur le pharynx est médiocre. Du fait de la fréquence des résistances (plus de 50 %), la ciprofloxacine ne peut être utilisée qu'en cas d'allergie aux bêta-lactamines et après documentation de la sensibilité de la souche par l'antibiogramme ;

- l'azithromycine (Zithromax®) n'est active dans les gonococcies qu'à des doses élevées (2 g) mal supportées. Il y a peu de place pour cet antibiotique dans le traitement des gonococcies sauf, peut-être, pour certaines gonococcies pharyngées, d'autant que des résistances sont apparues récemment ;

- la pénicilline et les cyclines sont abandonnées.

Sous traitement, l'écoulement urétral se tarit très rapidement en moins de 24 heures, le plus souvent. Un contrôle clinique s'impose à J7. Un contrôle microbiologique est inutile en cas de

traitement par ceftriaxone mais s'impose, en revanche, en cas d'utilisation d'un autre antibiotique et particulièrement en cas de localisation pharyngée initiale.

- Traitement des partenaires

Quels que soient la nature et les résultats des examens complémentaires pratiqués chez les partenaires, un traitement antigonococcique systématique doit leur être administré.

- Cas particuliers

L'association fréquente de la gonococcie à une infection concomitante à *Chlamydia trachomatis* (environ 20 %) nécessite de systématiquement associer un traitement antichlamydien à tout traitement antigonococcique.

Un récapitulatif du diagnostic et des traitements des infections à Gonocoques et Chlamydia est visible en annexe 5

PARTIE 3 : LES PROBIOTIQUES DANS LA THERAPEUTIQUE UROGENITALE

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 Historique

Si les recherches à leur sujet ont explosé depuis ces quinze dernières années; la découverte du potentiel thérapeutique des probiotiques date du début du siècle avec les travaux de Ilya Metchnikoff (prix Nobel de médecine pour ses travaux sur l'immunité) sur les propriétés protectrices des bactéries lactiques, découvertes par corrélation entre la longévité des paysans bulgares et leur consommation importante de yogourt [85]. Il sera le premier à envisager leur utilisation en thérapeutique : « La dépendance des microbes intestinaux par l'alimentation rend possible l'adoption de mesures pour modifier la microflore du corps en remplaçant les microbes nocifs par des microbes utiles »[86]. Cette hypothèse fait suite à celle du pédiatre français Henry Tissier qui eut la même réflexion en observant, dans le cas de diarrhées infantiles, la raréfaction des bactéries bifides (*Bifidobacterium*) normalement dominantes dans les selles des enfants sains. Suite à cela, il y eut un intérêt scientifique croissant malgré le manque de résultats positifs et d'objectivité pour certaines études. En dépit des investigations réalisées à l'aide des techniques de l'époque, le concept demeura sans preuve et fut mis de côté pendant de longues années. Ce n'est que depuis une vingtaine d'années que la recherche a repris dans ce domaine. L'amélioration des techniques d'identification et de caractérisation des souches probiotiques aidant, il est maintenant possible de sélectionner celles étant les plus appropriées pour répondre aux bénéfices souhaités. Les recherches dans le domaine des probiotiques se sont multipliées et ont permis à l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique de se développer pour atteindre un chiffre d'affaire de 7 milliards de dollars en 2007, devant aller selon les projections économiques jusqu'à 48 milliards d'ici 2017 [87]. Depuis ces vingt dernières années, les probiotiques sont reconnus et de plus en plus étudiés pour leurs propriétés protectrices majoritairement dans le domaine gastro-intestinal mais également à d'autres niveaux (buccal, immunologique, dermatologique, urogénital...).

II Définition et rôle des différents traitements utilisés pour rééquilibrer la flore vaginale.

Comme présenté dans la première partie, l'équilibre de la flore vaginale est assurée à différents niveaux : dans un premier temps, la production d'œstrogènes permet d'obtenir une charge glycoénergétique 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.

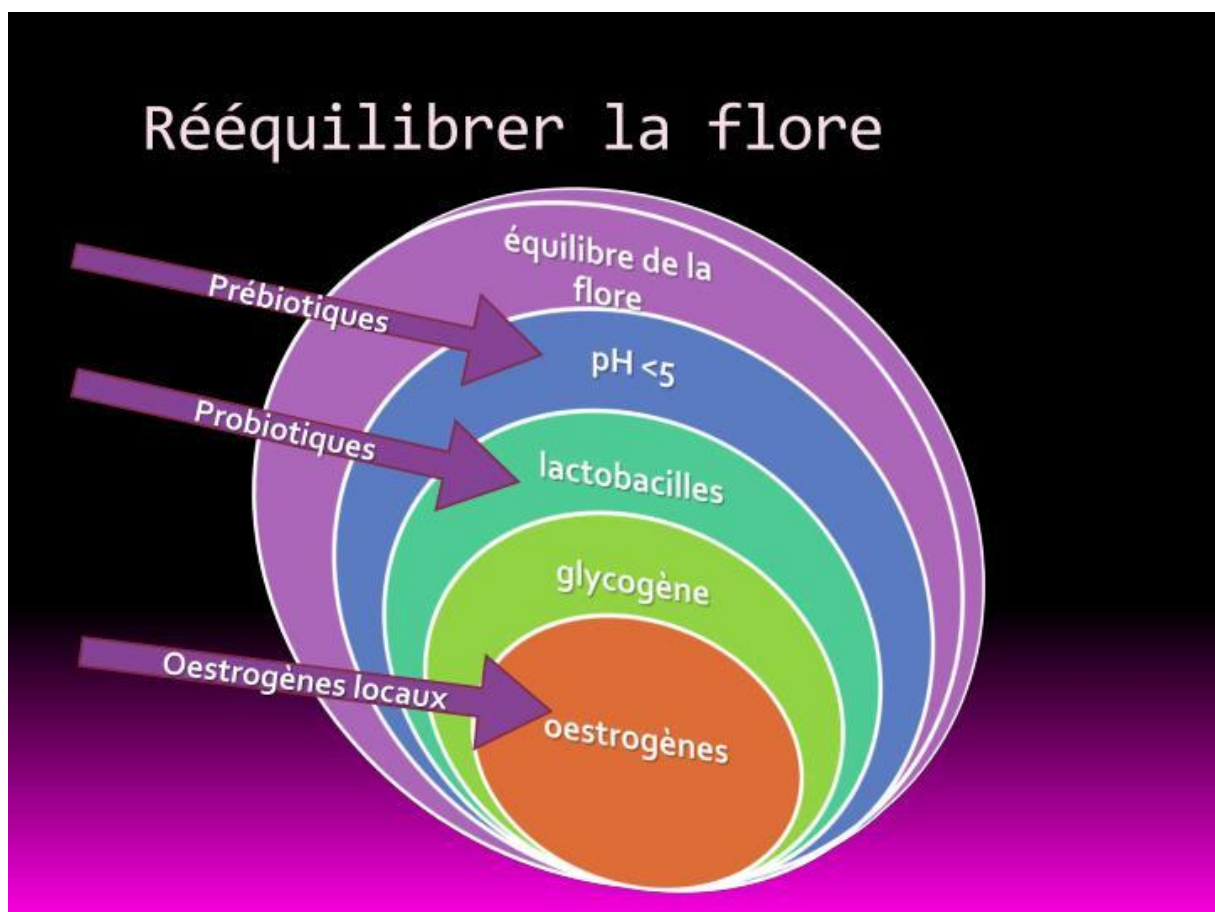


Figure 26: les différents niveaux d'action pour rééquilibrer la flore urogénitale[88]

II.A Les probiotiques

II.A.1 Définition

Littéralement, le terme vient du grec : *pro* qui signifie en faveur de et *bios* la vie. Pour qu'un produit entre dans la catégorie des probiotiques, il doit répondre à un certain nombre de critères avec en premier la définition du probiotique, établit en 2001 par l'OMS (organisation

mondiale de la santé) et la FAO (food and agriculture organisation) : « Sont considérés comme probiotiques les organismes vivants qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels »[89].

II.A.2 Les critères de sélection

Pour satisfaire à cette définition, les laboratoires sont tenus de s'assurer que les souches utilisées respectent des critères fonctionnels, technologiques et de sécurité assurant à la fois leur efficacité et leur innocuité. Les caractéristiques requises sont résumées dans la figure suivante.

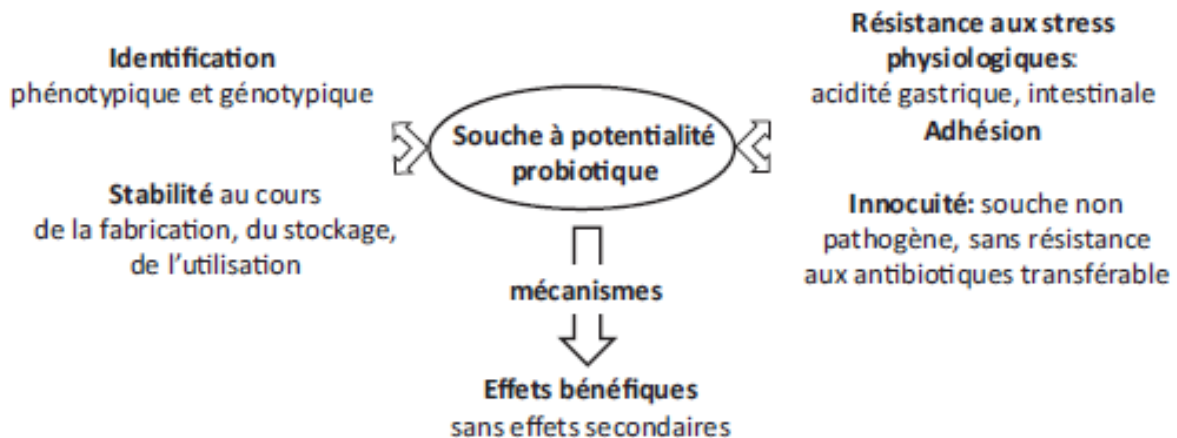


Figure 27: caractéristiques des souches probiotiques [91]

II.A.2.a Critères de sécurité

L'identification taxonomique est une étape importante dans l'établissement de nouvelles souches potentiellement probiotiques. Chacune doit être identifiée par des techniques moléculaires fiables et confrontée à une nomenclature actualisée. Le séquençage de l'ADN codant pour l'ARN 16S ribosomal est largement utilisé. Il est recommandé que cette technique soit combinée avec des tests phénotypiques pour confirmation.[89,90]

L'origine de la souche est une autre information à vérifier : elle doit être d'origine humaine pour celles destinées à l'usage humain et de préférence du même site que celui visé pour que son efficacité soit maximale.

Les souches probiotiques doivent également être sans effet négatif et sécuritaires pour la santé humaine. À ce titre, elles doivent être évaluées par des essais cliniques chez l'animal et chez l'homme afin qu'aucun des effets secondaires suivants ne soient détectés: infections systémiques, activité métabolique nuisible, stimulation immune excessive chez des individus susceptibles et transfert de gènes (par exemple de résistance aux antibiotiques)[91].

II.A.2.b Critères fonctionnels

Pour assurer une fonctionnalité optimale, les souches probiotiques doivent conserver leur viabilité jusqu'à leur site d'action. Avant d'atteindre le tractus intestinal, les probiotiques doivent résister principalement à l'environnement acide de l'estomac (pH compris entre 2,0 et 3,4) et à la bile sécrétée dans le duodénum. Le degré de tolérance à ces conditions diffère pour chaque souche[90,92]. Des tests in vitro sont réalisés pour sélectionner les probiotiques qui

maintiendront leur intégrité cellulaire et leur activité métabolique lors du passage dans le tractus digestif humain.

La capacité d'adhésion à la muqueuse est également une des propriétés essentielles que les souches probiotiques se doivent de posséder. Elle permet d'accroître le temps de rétention sur la zone d'action et met en contact étroit les bactéries et les cellules épithéliales. Ainsi, un probiotique ayant un fort pourcentage d'adhésion pourra éventuellement stimuler le système immunitaire et prévenir l'implantation de pathogènes par compétition. Les modèles *in vitro* pour évaluer l'adhésion des probiotiques font appels à des lignées cellulaires humaines et à des techniques conventionnelles de détection par coloration Gram, marquage radioactif ou par de nouvelles approches comme l'ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) et la quantification par PCR en temps réel.[87, 90, 93]

Parmi l'ensemble des critères, l'aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé demeure encore délicat à évaluer dû notamment au fait que les modes d'action par lesquels les probiotiques exercent un rôle fonctionnel *in vivo* sont méconnus.

II.A.2.c Critères technologiques

Afin de pouvoir bénéficier de leurs propriétés, les souches retenues doivent supporter les différentes étapes de la fabrication du produit probiotique fini et retrouver leur pleine efficacité lors de leur utilisation le tout sans contamination ni variation de leurs propriétés. Le recours à des procédés de conditionnement et de conservation industriels passe par des techniques de productions susceptibles d'altérer les intégrités structurelles et fonctionnelles. Leur choix devra être suivi de contrôle de qualité (taux de survie et persistance d'activité) et de pureté permettant d'assurer le respect des critères précédents.

La qualité de conservation des souches comme du produit fini dépend non seulement de la survie des micro-organismes, mais aussi de leur stabilité dans le temps. Elle est en général assurée par la conservation des inoculât initiaux purs par cryogénéisation et des souches (après récolte dans les milieux de culture) par séchage. Pour cela plusieurs procédés existent, le plus souvent la lyophilisation est utilisée car cette technique impose moins de contraintes au niveau des membranes et permet un taux de survie de quasiment 100% [94,95]. D'autres procédés moins coûteux existent mais leur recours à la chaleur entraîne une augmentation du risque d'altération des propriétés protectrices.

Le tableau suivant constitue un résumé des critères que doivent respecter les probiotiques

Tableau 19: critères de sélection des probiotiques [89, 91,94]

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

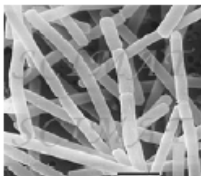

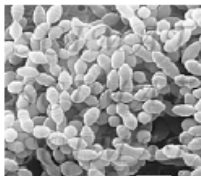
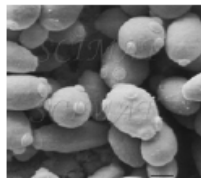
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives • Adhésion aux cellules intestinales et persistance au niveau des muqueuses • Production de substances antimicrobiennes et antagonisme envers les pathogènes • Immunomodulation • Aptitude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

II.A.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.[96] Parmi ces micro-organismes, 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. [97–99] Leur nature correspond en fait à la stratégie préférentielle de restauration de la flore dont la perturbation est à l'origine des manifestations pathologiques.

Tableau 20: Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques[97]

ESPECES DE LACTOBACILLES	ESPECES DE BIFIDOBACTERIES	AUTRES BACTERIES LACTIQUES	AUTRES MICROORGANISMES
 <p><i>Lactobacillus bulgaricus</i></p>	 <p><i>Bifidobacterium breve</i></p>	 <p><i>Streptococcus thermophilus</i></p>	 <p><i>Saccharomyces</i> sp.</p>
<p><i>Lb. acidophilus</i> La5 (Chr Hansen) <i>Lb. acidophilus</i> NCFM (RhoDia) <i>Lb. bulgaricus</i> 2038 (Meiji Milk) <i>Lb. casei</i> CRL431 (Chr Hansen) <i>Lb. casei</i> DN114001 (Danone) <i>Lb. casei</i> Shirota (Yakult) <i>Lb. johnsonii</i> La1 (Nestlé) <i>Lb. plantarum</i> 299v (ProViva) <i>Lb. reuteri</i> (BioGaia) <i>Lb. rhamnosus</i> GG (Valio)</p>	<p><i>Bf. breve</i> Yakult (Yakult) <i>Bf. lactis</i> Bb12 (Chr Hansen) <i>Bf. longum</i> BB536 (Morinaga) <i>Bf. animalis</i> DN173010 (Danone)</p>	<p><i>St. thermophilus</i> 1131 (Meiji Milk) <i>En. faecium</i> SF68 (Cemelle)</p>	<p><i>Sc. boulardii</i> Ultra-levure® (Biocodex)</p>

II.A.4 Sécurité d'utilisation des probiotiques.

Les effets secondaires et complications liés à la prise de probiotiques sont rares, ce sont des produits généralement considérés comme inoffensifs (l'innocuité faisant partie des critères de sélection des souches). Il a cependant été rapporté un certain nombre d'incidents à commencer par l'apparition d'infections : elles se sont produites chez des patients présentant en général une forte atteinte du système immunitaire (immuno-déficients, prématurés...).[100-102]

Les microorganismes intestinaux jouant un rôle dans le métabolisme et l'absorption des nutriments, il existe un risque théorique mais jamais observé à ce jour de développer une activité métabolique délétère au niveau digestif. [102,103]

D'autre part, des modèles murins ont démontré non seulement l'action du microbiote sur la croissance générale des individus mais également sur le développement des mécanismes immunitaires. Là encore, aucun cas pathologique n'est connu jusqu'ici mais la manipulation chronique de la composition de la flore intestinale pose la question des conséquences à long terme.[101,102]

Enfin, certaines souches de lactobacilles comportant une résistance naturelle aux antibiotiques (dont la vancomycine), la possibilité d'échange de matériel génétique plasmidique avec d'autres bactéries potentiellement pathogènes constitue un point d'intérêt. Néanmoins, ce caractère étant généralement porté au niveau du chromosome bactérien, le risque de transmission reste faible.[101,102]

II.B 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 ».[96]

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. D'un point de vue structurel, ce sont des oligosaccharides et plus précisément des fructo-(FOS) ou des galacto-oligosaccharides (GOS) mais aussi parfois des fibres, de l'inuline, des polyols, ou du lactose [104]. Ces molécules possèdent une structure relativement proche du glycogène mais sont utilisables par les lactobacilles sans entraîner d'effets promoteur de croissance vis-à-vis des pathogènes incapables de les métaboliser. De plus des structures oligosaccharidiques complexes semblables existent également dans les fluides recouvrant la muqueuse vaginale. 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.[55]

II.C 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. Si une telle relation est indiquée, elle doit encore être scientifiquement démontrée. [105]

II.D Formes et doses d'administration

Pour permettre l'introduction d'une population probiotique au niveau du microbiote vaginal perturbé, deux voies d'administration sont envisageables : la voie locale qui est la plus directe, ou la voie orale. Il n'a pas jusqu'ici été démontré de différence en terme d'efficacité. La relation entre l'environnement rectal et vaginal a cependant été faite et sa nature de réservoir du premier vis-à-vis du dernier laisse supposer qu'un entretien de la flore lactobacillaire rectale tient un rôle dans la prévention des infections urogénitales d'origine fécales et de ses récurrences. [69]

Dans une étude publiée en 2001, Reid G. et al.[106], ont mis en évidence non seulement la nécessité d'un dosage en lactobacilles supérieur à 10^9 UFC (unités formant des colonies) pour avoir un effet protecteur intéressant mais ils ont également observé que l'administration d'une seule souche est peu efficace et peu persistante dans le temps. Le tableau suivant résume les résultats de l'expérience.

Tableau 21: comparaison d'efficacité de différents dosages de *L. rhamnosus* GR-1 et *L. fermentum* RC-14 ou de *L. rhamnosus* GG à 0, 28 et 42 jours [106]

	Pourcentage de femmes avec microbiote vaginal sain (Nugent)			
	Groupe 1 (8×10^8 UFC)	Groupe 2 (1.6×10^9 UFC)	Groupe 3 (6×10^9 UFC)	Groupe 4 (10^{10} UFC) <i>L.rha.</i> GG
Avant traitement	40	50	27	44
Fin de traitement	60	82	45	38
Deux semaines post-traitement	56	90	30	33

II.E Exemple de deux souches probiotiques aux propriétés démontrées sur la flore vaginale : *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus reuteri* RC-14

Ce sont deux souches physiologiques du microbiote vaginal qui répondent aux critères de sélection permettant d'en faire des souches probiotiques. Jusqu'au début des années 2000, la souche *reuteri* était injustement assimilée à celles de l'espèce *fermentum*, ce sont en fait deux espèces différentes. Il arrive encore qu'elle apparaisse dans la littérature sous l'appellation *L. fermentum* RC-14.

II.E.1 Propriétés physiologiques et pharmacologiques

Lactobacillus rhamnosus GR-1 et *Lactobacillus reuteri* RC-14 ont démontré :

- Des propriétés de résistance à l'acidité gastrique et biliaire et leur aptitude à coloniser l'intestin [107]
- Des capacités à produire des facteurs inhibant le développement de germes pathogènes [108]
- Leur innocuité totale [109].

Ces deux souches ont prouvé leur capacité à coloniser la cavité vaginale et à inhiber le développement des germes pathogènes en administration par voie orale. La souche *Lactobacillus reuteri RC-14* a démontré une inhibition de la croissance des entérocoques et une production de biosurfactant [110]

Très peu de souches de probiotiques ont une action efficace contre les *Candida* car ceux-ci résistent à l'action de l'acidité et au peroxyde d'hydrogène. La souche *Lactobacillus rhamnosus GR-1*, mise en culture, induit une régression du gène impliqué dans la filamentation, phénomène agissant dans la prolifération du champignon [111]

Enfin ses deux souches sont porteuses de gènes de résistance envers les antibiotiques habituellement utilisés en cas de vaginose bactérienne.

II.E.2 Capacité de colonisation du microbiote vaginal

Lactobacillus rhamnosus GR-1 et *Lactobacillus reuteri RC-14* survivent au passage intestinal et ont démontré leur capacité de migration vers le tractus génital après une prise orale. La colonisation rectale par les lactobacilles est un phénomène important pour le maintien d'une flore vaginale saine. Par leurs propriétés directes, la présence et le développement des probiotiques *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14* permettent de limiter la prolifération des germes pathogènes intestinaux

Deux études ont montré le tropisme vaginal des souches *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14* après une administration orale :

- En 2001, *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14* ont été administrés par voie orale à dix femmes pendant quatorze jours. Leur morphotype a été identifié par le génotypage de l'ARN ribosomal 16S. Les prélèvements vaginaux réalisés avant la première prise orale n'ont pas révélé la présence de ces souches. Une semaine plus tard, les analyses ont identifié *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14* dans les prélèvements vaginaux de toutes les femmes de l'étude [107]
- Une autre étude de 2004 confirme que la prise orale de ces deux souches conduit à une augmentation significative de la population lactobacillaire vaginale [112]

II.E.3 Etudes d'efficacité

Un certain nombre de publications ont mis en évidence les effets de ces deux souches sur la santé urogénitale. Quelques-unes sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 22 : études randomisées de l'effet bénéfique des souches probiotiques *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14*

étude	description	galénique	Souche	Durée	résultat
Reid et al. (2002)[109]	64 femmes (19-46ans) sans historique pathologique récent mais inclusion flores perturbées sans symptômes admises dans l'étude	Gélules de souches lyophilisées	<i>L.rhamnosus GR-1</i> et <i>L.reuteri RC-14</i> Dosage : 10^9 1 gélule par jour ou placebo	60 jours	Colonisation vaginale lactobacillaire chez 94% des femmes sous probiotiques et réduction de la prolifération des levures par rapport au placebo
Petricevic L. et al (2008) [113]	72 femmes post ménopausées avec score de Nugent entre 4 et 6	Gélules de souches lyophilisées	2.5×10^9 UFC de <i>L. rhamnosus GR-1</i> et <i>reuteri RC-14</i> vs placebo	14 jours	Baisse du score de Nugent de 2 point pour 60% du groupe avec probiotiques vs 16% pour le placebo
Martinez R.C.R et al. (2009) [114]	64 femmes avec bactériose vaginale	Gélules de souches lyophilisées	2g de tinidazole (nitro-5-imidazolé) et 2 gélules de <i>L. rhamnosus GR-1</i> et <i>reuteri RC-14</i> ou placebo	28 jours	87.5% de guérison dans le groupe avec probiotiques vs placebo 50%. 75% de retour à une flore normale avec probiotiques vs 34.4% pour le placebo
Anukam K. et al. (2006) [115]	125 femmes de 18 à 44 ans avec bactériose vaginale	Gélules de souches lyophilisées	500mg métronidazole 2 fois par jour 7j avec <i>L. rhamnosus GR-1</i> et <i>L. reuteri RC-14</i> à 1×10^9 UFC ou placebo 2fois par jour pendant 30 jours	7 jours et contrôle à 30 jours.	J30 : 88% de guérison avec probiotiques, 40% avec placebo Forte recolonisation lactobacillaire vaginale dans 96% de cas avec probiotiques

En conclusion, les études cliniques menées sur l'association des souches *Lactobacillus rhamnosus GR-1* et *Lactobacillus reuteri RC-14* ont donc démontré :

- Qu'elles contribuent à maintenir l'équilibre de la flore vaginale saine et à restaurer l'équilibre de la flore fragilisée.
- Qu'elles se montrent actives par voie orale.

- Qu'elles optimisent les traitements des infections génitales basses les plus fréquentes comme la vaginose bactérienne.

D'autres souches existent et sont exploitées dans une gamme de probiotiques de plus en plus large dont voici en exemple une liste non exhaustive.

Tableau 23 : exemple de spécialités probiotiques à visée urogénitale.[96]

Nom de spécialité / Forme galénique	Composition	Posologie
Medigyne [®] , gélule vaginale	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i>	Une gélule au coucher pendant 8 à 10 jours
Florgynal [®] Tampon Probiotique	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LN113, <i>Lactobacillus gasseri</i> LN40 et <i>Lactobacillus fermentum</i> LN99	S'utilise comme un tampon périodique habituel
Bion [®] Flore Intime, gélule <i>per os</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1 et <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14	Une gélule par jour pendant 28 jours
Bioprotus [®] Flore Intime, stick <i>per os</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-14, <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> et <i>Lactobacillus salivarius</i>	Un stick par jour pendant 14 jours
BactiGyn [®] , gélule vaginale	<i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> et <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Une gélule par jour pendant 5 jours
Orogyn [®] , gélule <i>per os</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> et <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Une gélule par jour pendant 15 jours
Gynophilus [®] , capsule vaginale	<i>Lactobacillus casei rhamnosus</i> <i>Döderleini</i>	Phase d'attaque : une capsule vaginale 2 fois par jour pendant une semaine. Phase d'entretien : une capsule vaginale une fois par jour pendant 2 semaines
Léro Gynelys [®] , capsule <i>per os</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>) et canneberge	Une capsule par jour pendant 3 semaines
Urell Flore [®] , gélule <i>per os</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> et <i>Lactobacillus salivarius</i>	Une gélule par jour pendant 15 jours minimum
Gynbiotic [®] Pro, solution orale	<i>Lactobacillus helveticus</i> LAFTI L10, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 et canneberge	Un flacon par jour (de préférence le matin)
Gynebiotic [®] Intima, tablette vaginale	<i>Lactobacillus acidophilus</i> et canneberge	Une tablette le soir au coucher pendant 10 jours
Hydralin Flora [®] , capsule vaginale	<i>Lactobacillus plantarum</i> P17630	Une capsule le soir pendant 6 jours

III Les effets protecteurs des probiotiques

III.A Mécanisme d'action contre les pathogènes

III.A.1 Mécanismes anti-bactériens

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 [85]

Dans ce contexte, une des propriétés les plus importantes est, comme vu dans la première partie, la capacité de maintenir le pH vaginal en dessous de 4,5. Ce paramètre dépend particulièrement du nombre de lactobacilles présents capables d'acidification du milieu, soulignant l'importance d'une colonisation massive (aspect quantitatif), mais aussi des propriétés antimicrobiennes spécifiques de chacune des souches utilisées (aspect qualitatif). 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 [85,116].

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* (GAI 98332 et CTV05) et *L. reuteri RC-14* qui en ont fait la démonstration. [117]

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 GR-1* regroupe ces propriétés avec en plus une bonne résistance au N-9 (Nonoxynol 9) retrouvé dans un certain nombre d'agents spermicides. [117] D'autres espèces de lactobacilles, *L. acidophilus* et *L. delbrueckii*, semblent fortement diminuer l'adhérence de *Candida albicans*. [118]

Concernant le mécanisme de co-agrégation, trois souches empêchent les pathogènes d'accéder aux récepteurs membranaires et aux épithéliums urogénitaux : *L. brevis CD2*, *L. salivarius FV2*, et *L. gasseri MB335* [85]. Enfin, une des souches majeures, *L. reuteri RC-14* déjà évoquée, forte productrice de H₂O₂, est également retrouvée dans beaucoup de préparations pour sa capacité à libérer des biosurfactants très actifs sur l'adhésion de *C. albicans* [118].

III.A.2 Mécanismes antiviraux

Plusieurs mécanismes en lien avec l'histologie ainsi que le système immunitaire permettent de constituer une barrière active à l'encontre des infections par les virus sexuellement transmissibles (VIH, herpès et papilloma virus).

Le premier facteur protecteur est constitué par le mucus tapissant les voies urétrales, vaginales et rectales. Il contient en effet un certain nombre de molécules antimicrobiennes actives tels que la calprotectine (facteur inflammatoire), le lysozyme, la lactoferrine, l'inhibiteur de la sécrétion des leucoprotéases (SLPI), les peptides neutrophiles humain (HNPs) ou encore la β -défensine humaine, produites majoritairement par les cellules épithéliales, les cellules

pathogènes (bactériens comme viraux) [124]. Ces dernières se situant aussi sur les membranes épithéliales, elle agit non seulement en constituant un biofilm empêchant l'accès aux muqueuses, mais aussi en bloquant par fixation les mécanismes de virulence (adhésion et invasion cellulaire). Elles constituent aussi des éléments de compétition avec les virions libres pour l'accès aux récepteurs d'endocytose des cellules cibles du VIH (macrophages, lymphocytes T...)

Enfin, quelques études ont mis en évidence la capacité de certaines souches de lactobacilles à stimuler le système immunitaire, par exemple en augmentant la capacité de production de médiateurs pro-inflammatoires type interleukines et interféron par les macrophages ou encore des anticorps antiviraux par les lymphocytes [125].

Ainsi, bien qu'il manque encore les travaux scientifiques pour comprendre clairement les mécanismes mis en jeu, la supplémentation en probiotiques de la flore urogénitale semble présenter un intérêt dans la lutte contre les agents infectieux viraux sexuellement transmissibles autant par les mécanismes précédemment évoqués que par antagonisme envers les pathologies bactériennes et mycologiques favorisant les contaminations par les virus au niveau urogénital.

III.B Etudes d'efficacité des probiotiques vis-à-vis des pathologies urogénitales

Parmi le grand nombre d'études ayant été réalisées sur le sujet, il est difficile de tirer des conclusions définitives quant à une éventuelle efficacité en raison de l'hétérogénéité des protocoles, des modalités d'inclusion, des molécules médicamenteuses et souches probiotiques utilisées ou encore des réponses aux traitements. Pour apporter une réponse définitive, il serait nécessaire de réaliser des essais cliniques randomisés supplémentaires avec des méthodologies standardisées et de larges échantillons. Malgré cela, une analyse non exhaustive de quelques études portant sur des pathologies urogénitales courantes est présentée ici afin de comprendre l'intérêt qu'apporte l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale.

III.B.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.[126] 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 prometteurs.

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.[127]

Enfin il a été démontré que l'association des probiotiques avec les proanthocyanidines de la canneberge (*Vaccinium macrocarpon*) contribue à inhiber la prolifération des pathogènes et espacer les épisodes d'infection urinaires.[128]

III.B.2 **Probiotiques et vaginose bactérienne**

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

- Probiotiques versus placebo : les résultats de ces test 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 récives très élevé.
- Récidives avec probiotiques seuls : leur utilisation en prévention entre deux épisode affiche de bons résultat (Larson et al.) que leur administration se fasse par voie vaginale ou orale. La prise se fait périodiquement la plupart du temps et se répète sur plusieurs mois. Cependant, même si le taux de rechute est diminué, il reste élevé. Les probiotiques ne suppriment donc pas les rechutes mais permet de les espacer. Ils constituent donc un soutien post-antibiotique en stabilisant la flore urogénitale.
- Probiotiques associés au antibiotiques : la majorité des études cliniques semble aller dans le sens d'une association permettant d'améliorer le taux de guérison. Ici encore le peu d'études, les résultats contradictoires et l'absence de standardisation rendent l'interprétation difficile. En effet si Anukam et al. En 2006 a montrer une association positive entre probiotique et métronidazole, l'étude de Erikson et al. N'a pas démontré de bénéfice.
- Probiotiques associés aux œstrogènes : il s'agit d'une formule réservée au traitement des vaginoses des femmes ménopausées et péri-ménopausées. La supplémentation hormonale peut permet un certain rééquilibrage du microbiote[129] mais les études sont rares et contradictoires quant au bénéfice de l'apport en probiotiques.

Tableau 24: études d'efficacité des probiotiques dans le traitement de la vaginose bactérienne

Etude	description	Forme galénique	Souche(s)	Durée de traitement	résultat
Drago et al. 2007[130]	40 femmes	Douche vaginale	<i>L. acidophilus</i>	1/j pendant 6j	VB avant traitement : 52.5% VB après

					traitement : 7.5%
Mastromarino et al., 2009 [131]	39 femmes Double aveugle Randomisée probiotiques vs placebo	Comprimés vaginaux	<i>L. brevis</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. plantarum</i> 10 ⁹ UFC/cp	1/j pendant 7j	Guérison à 1 semaine : 100% vs 12% placebo
Larson et al. 2008 [132]	100 femmes Double aveugle Randomisée Vs placebo	Capsules vaginales	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. gasseri</i> 10 ⁸⁻⁹ UFC/caps	Clindamycine 2% crème vaginale 1j suivi de 1 capsule/j, 10j par mois pendant 3 mois	Guérison : 65% vs 46% placebo Rechute à 6 mois : 35% vs 55% placebo
Eriksson et al. 2005 [133]	255 femmes Randomisée Double aveugle Vs placebo	tampons	<i>L. gasseri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. fermentum</i>	Clindamycine 100mg 1 ovule/j pendant 3j puis tampons pendant chaque période de règle pendant 2 mois	Guérison : 56% vs 62% placebo
Anukam et al. 2006 [134]	125 femmes Randomisée Double aveugle Vs placebo	Capsules per os	<i>L. rhamnosus GR-1</i> <i>L. reuteri RC-14</i> 10 ⁹ UFC/caps	Metronidazole 2/j 7j puis 2 caps/j pendant 30j	Guérison : 88% vs 40% placebo

III.B.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, [135]) 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. [107] 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 GR-1* et *L. gasseri RC-14*.

Les probiotiques ont également été testés dans la prévention des candidoses post-antibiothérapie et n'ont pas toujours pu démontrer une quelconque efficacité [136]. En revanche, leur administration avec le fluconazole permettrait d'améliorer les symptômes et de négativer plus rapidement les cultures [137]

Tableau 25: études cliniques d'efficacité des probiotiques dans le traitement et la prévention de la candidose vaginale.

Etude	Description	Forme galénique	Souche	Durée de traitement	Résultats
Williams et al. 2001 [135]	164 femmes infectées par le VIH	Capsules vaginales	<i>L.acidophilus</i>	1/semaine pendant 21 mois	Cas de candidoses : Groupe 1 (<i>L.acidophilus</i>) : 15% Groupe 2 (clotrimazole) : 14% Groupe 3 (placébo) : 32%
Reid et al, 2001 [107]	10 femmes	Voie orale	<i>L.rhamnosus GR-1</i> et <i>L.reuteri RC-14</i>	2/j pendant 14j	Après une semaine de traitement : flore vaginale recolonisée par les lactobacilles
Pirotta et al., 2004 [136]	253 femmes avec antibiothérapie en indication non gynécologique	Comprimés voie orale	<i>L. rhamnosus B. longum</i>	2/j pendant 10j	Culture à candida positive : Groupe 1 (probiotique oral et local) : 24% Groupe 2 (probiotique local) : 23% Groupe 3 (probiotique oral) : 23% Groupe 4 (placébo) : 13%
		Ovules vaginales	<i>L.rhamnosus L.delbrueckii L.acidophilus Streptococcus thermophilus</i>	1/j pendant 10j	
Martinez et al, 2009, [137]	55 femmes	Capsule vaginale	1dose de fluconazole 150mg Puis: <i>L.rhamnosus GR-1</i> et <i>L.reuteri RC-14</i>	2/j pendant 4 semaines	A 4 semaines, symptômes (leucorrhée) : 10% groupe probiotique vs 39% placébo Culture négative : 90% groupe probiotique vs 60% placébo

III.B.4 Probiotiques et virus

Comme pour les pathologies bactériennes, les performances vis-à-vis des virus dépendent intrinsèquement des propriétés de chaque souche. Leurs propriétés microbiennes avérées par leur production acide a fait envisager la possibilité d'une action antivirale. Aujourd'hui, un nombre croissant d'études tend à apparaître concernant des recherches sur l'utilisation de souches probiotiques recombinantes pour une action sur le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

En 2003, Chang et al. [138] a utilisé un lactobacille auquel a été ajouté un gène plasmidique d'expression de deux domaines CD4 capable de fixer spécifiquement les glycoprotéines capsulaires gp120 du VIH. Le résultat montre une diminution de l'infectiosité virale. Cette étude *in vitro* présente un moyen de bloquer la transmission virale et en conséquence, de provoquer une diminution de la charge virale. Le modèle reste à étudier *in vitro* mais présente une stratégie intéressante pour les patients contaminés.

D'autres auteurs ont étudié certains inhibiteurs immunitaires liant des récepteurs capsulaires du VIH tel que le CCR5 et ICAM-1, protéines capsulaires impliquée dans l'interaction intercellulaires et la présentation des antigènes viraux des cellules infectées à celles encore saines. Sur ce principe Chancey et al.[139] ont utilisé une souche de *L. casei* exprimant un anticorps recombinant anti-ICAM-1 permettant de bloquer l'interaction intracellulaire donc la transmission virale. Pusch et al. en 2006 [140], ont envisagé une autre technique impliquant la recombinaison de lactobacille avec un gène exprimant un peptide inhibiteur de fusion actif sur une glycoprotéine transmembranaire et empêchant l'entrée du VIH dans la cellule. Celle-ci a montré de bons résultats avec une neutralisation de 98% de l'infectiosité. Une dernière approche via l'expression de lectines membranaires visant les glycoprotéines virales par les bactéries lactiques a été envisagée par Giomarelli et al. en 2002[141]. Cette méthode permet de bloquer l'entrée des virions à l'intérieur des cellules ciblées par le virus. Elle démontre une bonne efficacité antivirale et la recombinaison génétique est aussi faisable sur les lactobacilles [142,143].

Tableau 26: études sur les propriétés antivirales des probiotiques vis-à-vis du VIH

Etude	Description	Souches	Résultat
Chang et al. 2003 [138]	Etude <i>in vitro</i> de l'action de lactobacilles recombinés exprimant deux domaines protéiques CD4 liant le virus VIH en présence de culture cellulaire	<i>L. jensenii</i>	Une diminution de l'infectiosité du virus a pu être observée
Chancey et al.[139]	Etude <i>in vitro</i> de l'action d'un lactobacille recombiné exprimant un anticorps anti-ICAM-1 sur le virus VIH	<i>L. casei</i>	Bonne diminution de l'infectiosité intercellulaire
Pusch et al. 2006 [140]	Etude <i>in vitro</i> de l'action de lactobacilles recombinés exprimant des peptides inhibiteurs de fusion sur le VIH	<i>L. plantarum</i> <i>L. casei</i> <i>L. lactis</i>	Infectiosité diminuée de 98%
Giomarelli et al. 2002	Etude <i>in vitro</i> de l'action d'une bactérie lactique recombinée exprimant	<i>Streptococcus gordonii</i>	Bloquage de la fusion des virions

[141]	des lectines visant les virions de VIH		avec leurs cellules cibles.
-------	--	--	-----------------------------

Une autre pathologie virale bénéficie elle aussi d'un intérêt dans l'utilisation des probiotiques : l'herpès génital est une pathologie virale sexuellement transmissible chronique et dont le premier stade d'infection dépend de la capacité d'accès et d'adhérence des virions aux cellules épithéliales. Ici encore, la qualité du biofilm lactobacillaire est un bouclier contre la primo-infection. D'autre part, plusieurs études tendent à montrer que les lactobacilles présentent une activité antivirale bien que les mécanismes mis en jeu ne soient pas connus.

Tableau 27: études des probiotiques sur les virus de l'herpès génital

Etude	Description	Souche	Résultat
Zabihollahi et al. 2012 [144]	Etude <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> (sur modèle murin) des lactobacilles sur l'infection à HSV	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. crispatus</i>	Démonstration d'une activité virucide et inhibitrice <i>L. crispatus</i> diminue de 50% la réplication virale <i>L. gasseri</i> inhibe la fixation des virions
Conti et al. 2009 [145]	Etude de l'effet de lactobacilles sur l'infection à HSV-2	<i>L. brevis</i> <i>CD2</i> <i>L. salivarius</i> <i>FV2</i> <i>L. plantarum</i> <i>FV9</i>	Acide lactique et H ₂ O ₂ produisent un effet virucide dose dépendant en interférant avec la réplication intracellulaire du virus et Inactivation pH-dépendante des virions libre

Concernant les infections à *papilloma virus* (HPV), elles sont fréquentes mais transitoires et spontanément résolues dans 90% des cas. Elles peuvent cependant conduire au développement du cancer du col de l'utérus avec le développement de cellules tumorales, mais si le virus HPV est un facteur de risque, il n'est pas à lui seul le déclencheur. La dominance de la flore vaginale par les lactobacilles laisse supposer qu'ils jouent un rôle dans le développement de la pathologie. En effet, et bien que les mécanismes ne soient pas encore complètement expliqués, un certain nombre d'études réalisées sur des cellules cancéreuses (principalement digestives) ont montré que les lactobacilles sont capables de synthétiser en présence de cellules tumorales des substances inhibant la prolifération et activant les phénomènes d'apoptose (TNF α en association avec des interleukines et interféron)[146]

Leur action vis-à-vis des infections à HPV a été étudiée par l'équipe de Verhoeven et al. [147]. Un panel de 54 femmes présentant une infection à papilloma virus avec lésion cervicales précancéreuses a été suivi pendant 6 mois en deux groupes : un contrôle sans traitement et l'autre avec administration de probiotiques sous forme de boisson une fois par jour. Au final, le groupe traité avait deux fois plus de chances de voir les anomalies cytologiques disparaître par rapport au témoin (60% contre 31% respectivement). 29% du groupe avec probiotiques a vu son infection virale disparaître contre 19% pour le contrôle.

Cette étude exploratoire suggère une action antivirale et anticancéreuse à l'encontre du HPV et de ses lésions.

D'autres études sont encore nécessaires mais l'utilisation de lactobacilles peut s'avérer être une bonne stratégie préventive dans la prévention des cancers.

III.B.5 **Probiotiques et MST**

Les maladies sexuellement transmissibles (MST), en augmentation à travers le monde, sont souvent responsables de lésion génitales et de complications pouvant aller jusqu'à la stérilité si elles ne sont pas correctement prises en charge.

Il arrive fréquemment qu'elles se produisent à l'occasion de co-infections avec d'autres pathologies infectieuses telle que les bactérioses vaginales ou encore l'herpès génital. C'est notamment vrai pour *Chlamydia trachomatis*. Il peut arriver dans ses cas là que le germe passe sous une forme latente donnant par la suite des manifestations inflammatoires chroniques.[148]

Il existe encore peu d'études sur les effets de la flore urogénitale vis-à-vis des MST mais celles disponibles tendent à indiquer un effet protecteur. L'équipe de Rizzo et al. s'est intéressé aux effets immunomodulateurs de *Lactobacillus crispatus* sur la réponse inflammatoire consécutive à l'infection par *Chlamydia trachomatis* [148]. En effet, en réponse à la colonisation cellulaire de l'épithélium vaginal par la bactérie, il se produit une libération de molécules pro-inflammatoires (Il-6, Il-8 et TNF α) visant à activer le système immunitaire. *C. trachomatis* étant un pathogène intracellulaire, elle échappe aux acteurs immunologiques tels que les macrophages, les lymphocytes ou les polynucléaires qui se concentrent avec la persistance de leur stimulation et induisent une cytotoxicité envers l'épithélium à l'origine des lésions. *L. crispatus*, en plus d'avoir de bonnes propriétés d'adhérence et de co-aggrégation, synthétise l'interleukine 10 (Il-10) qui agit comme inhibiteur du signal inflammatoire et limite donc les lésions qui en découlent.

Une autre étude (Mastromarino et al. [149]) a, elle, démontré la capacité de certaines souches de lactobacilles à non seulement affecter la capacité d'adhésion des formes libres du pathogène, mais aussi à bloquer son passage sous forme réticulée (intracellulaire) ou sous forme aberrante (forme végétative), induisant une augmentation de sa forme libre vulnérable à l'acide lactique et peroxyde d'hydrogène. D'autres études in vivo sont nécessaires pour confirmer ces résultats et préciser les mécanismes d'actions.

Tableau 28: études des effets des probiotiques sur les infections à *Chlamydia trachomatis*

Etude	Description	Souche	Résultat
Rizzo et al. 2015 [148]	Etude in vitro des effets de <i>L. crispatus</i> sur la réponse inflammatoire à l'infection par <i>C. trachomatis</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	Inhibition de la production d'Il-6, Il-8 et TNF α Disparition des lésions épithéliales

Mastromarino et al. 2014 [149]	Etude <i>in vitro</i> des effets de deux souches de lactobacilles sur l'infection à <i>C. trachomatis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>L. brevis</i> est plus actif que <i>L. salivarius</i> sur toutes les étapes du cycle de <i>C. trachomatis</i> <i>L. brevis</i> inhibe le passage à la forme persistante avec augmentation de la forme libre
--------------------------------	---	--	---

Une autre MST courante peut bénéficier des effets des probiotiques : *Neisseria gonorrhoeae*.

Cette action passe dans un premier temps par l'inhibition de la fixation de la bactérie aux cellules l'étude *in vitro* de Vielfort et al. en 2008 [150] a montré l'efficacité de l'action des probiotiques sur la fixation bactérienne. Il s'avère qu'elle est dépendante non seulement de la souche mais aussi de la provenance de celle-ci : un lactobacille provenant de la muqueuse buccale sera moins efficace si il est réimplanté au niveau vaginal par exemple. Il faut que ce soit « la bonne bactérie au bon endroit pour lutter contre la mauvaise bactérie au mauvais endroit ». Si toutes les conditions sont réunies, alors les lactobacilles seront en mesure d'isoler le pathogène par formation d'un biofilm mais aussi par co-agrégation avec le pathogène.

En effet, une étude menée par l'équipe de St.Amant et al. en 2002 [151] a évalué *in vitro* l'action antibiotique de quatre souches de lactobacilles sur la colonisation du milieu par le gonocoque. Il apparaît que la population lactobacillaire urogénitale, en plus d'inhiber l'adhésion cellulaire des bactéries, présente une action bactéricide par la production de H₂O₂. L'effet dépend des concentrations en probiotiques et son intensité dépend de la souche considérée : de toutes celles testées, ce sont *L. crispatus* et *L. jensenii* qui se sont révélés les plus efficaces en raison du plus large intervalle de pH sur lequel ils sont actifs.

Tableau 29: étude des effets des probiotiques sur les infections à *Neisseria gonorrhoeae*

Etude	Description	Souches	Résultats
Vielfort et al. 2008 [150]	Evaluation <i>in vitro</i> de l'action de quatre souches probiotiques sur l'adhésion de <i>N. gonorrhoeae</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Meilleure adhérence des souches d'origine vaginales <i>L. rhamnosus</i> peu efficace Fixation des gonocoques sur les lactobacilles
St.Amant et al. 2002 [151]	Etude <i>in vitro</i> de l'effet antibiotique de souches probiotiques sur l'infection à gonocoques	<i>Lactobacillus crispatus</i> <i>Lactobacillus jensenii</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Inhibition dose dépendante par production de H ₂ O ₂ . <i>L. crispatus</i> et <i>L. jensenii</i> plus efficace que <i>L. gasseri</i> et <i>L. acidophilus</i> car actifs même sur des pH élevés

III.B.6 **Probiotiques et accouchement prématuré**

Les lactobacilles sont reconnus en gynécologie comme des protecteurs vis-à-vis des pathogènes urogénitaux et de leurs conséquences néfastes sur la grossesse par leurs capacités d'adhérence et de production de facteurs de défense (peroxyde, acide lactique, bactériocines...). Plus explicitement, l'équipe de Kim et al. en 2006 a étudié la répartition des lactobacilles producteurs de H₂O₂ qui passe d'une proportion de 59 à 96% dans une flore vaginale saine à 6 à 23% dans le cas d'accouchements prématurés liés aux infections urogénitales [152].

Ils sont également actifs par leur capacité à moduler les réponses inflammatoires de l'épithélium. En effet, lors des naissances prématurées, il n'est pas rare de détecter des facteurs de signalisation pro-inflammatoires tels que IL-6, 8 ou encore le TNF α au niveau des sécrétions vaginales. L'équipe de Yang et al. en 2013 [153] a démontré l'influence de souches de *L. rhamnosus GR-1* sur l'action des lipopolysaccharides pro-inflammatoires. Pour ce faire, ils ont administré une solution probiotique au niveau vaginal préalablement à la mise en contact direct de ces molécules avec le myomètre chez des souris gestantes, induisant ainsi le déclenchement du travail. Ils ont ensuite comparé les taux de naissances prématurées entre cet échantillon et un échantillon témoin. Celui ayant reçu la solution de *L. rhamnosus GR-1* a présenté 43% de naissances prématurées de moins par rapport à l'autre. L'élargissement de cette hypothèse demande encore à être expérimenté mais déjà les probiotiques se profilent comme une piste préventive intéressante concernant les accouchements prématurés.

IV **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.

IV.A **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. Le pharmacien doit être capable d'orienter les femmes 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. Le tableau suivant indique quelques références de savons disponibles en pharmacie. Les savons liquides à pH alcalin sont surtout réservés aux mycoses et aux désagréments qui y sont associés (irritation, démangeaison...). En effet, les levures se développent à pH acide, cela permet donc de lutter contre leur prolifération. En dehors des mycoses, leur utilisation n'est pas recommandée pour ne pas déséquilibrer la flore dont le pH est habituellement acide.

Tableau 30: principaux produits d'hygiène intime disponibles en pharmacie (réalisé à partir de www.eurekasanté.fr)

Nom commercial	Composition	Propriétés	Indication
HYDRALIN APAISA® Bayer Santé Familiale	Extrait de lotus Provitamine B5 Acide lactique pH physiologique (pH=5.2)	Propriétés calmantes et adoussissantes Acidifiant, maintient l'équilibre de la flore vaginale	Toilette intime quotidienne
GYN HYDRALIN® Bayer Santé Familiale	Glycocolle pH alcalin (pH=8.5)	Acide aminé aux propriétés calmantes	A n'utiliser qu'en cas d'irritations, démangeaisons ou infections vaginales (C. albicans surtout)
MYLEUCA® IPRAD santé	Huile essentielle de Melaleuca alternifolia à 1% pH alcalin (pH=8.5)	Propriétés antifongiques et germicides	Infections à C. albicans A utiliser en complément des traitements antifongiques
SAFORELLE® IPRAD santé	Extrait de bardane à 1.2% pH alcalin (pH=8)	Propriétés adoussissantes et apaisantes	Toilette intime quotidienne
SAUGELLA Dermoliquide Rottapharm	Extrait de sauge pH physiologique	Propriétés antiprurigineuses et adoussissantes	Toilette intime quotidienne
SAUGELLA® Antiseptique Naturel	Extrait de sauge Extrait de thym Acide lactique pH physiologique	Propriétés antiprurigineuses et adoussissantes, antiseptique, antibactérien, acidifiant, maintient l'équilibre de la flore vaginale	Irritations, démangeaisons, hygiène intime pendant la grossesse, en post- accouchement ou en appoint des traitements antifongiques
SAUGELLA® Poligyn	Extrait de camomille Extrait de thym Acide lactique pH neutre	Propriétés adoussissantes, antiseptique et antibactérien	Toilette intime quotidienne chez la femme ménopausée (muqueuses sensibles et légère augmentation du pH vaginal)

IV.B 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.

CONCLUSION

La santé de notre microbiote urogénital est très largement dépendante de l'équilibre de son écosystème largement dominé par les lactobacilles. Comme nous avons pu le voir au cours de cette thèse, la perturbation de ce dernier est responsable de l'apparition des pathologies urogénitales si fréquentes et invalidantes pour les femmes qui en souffrent.

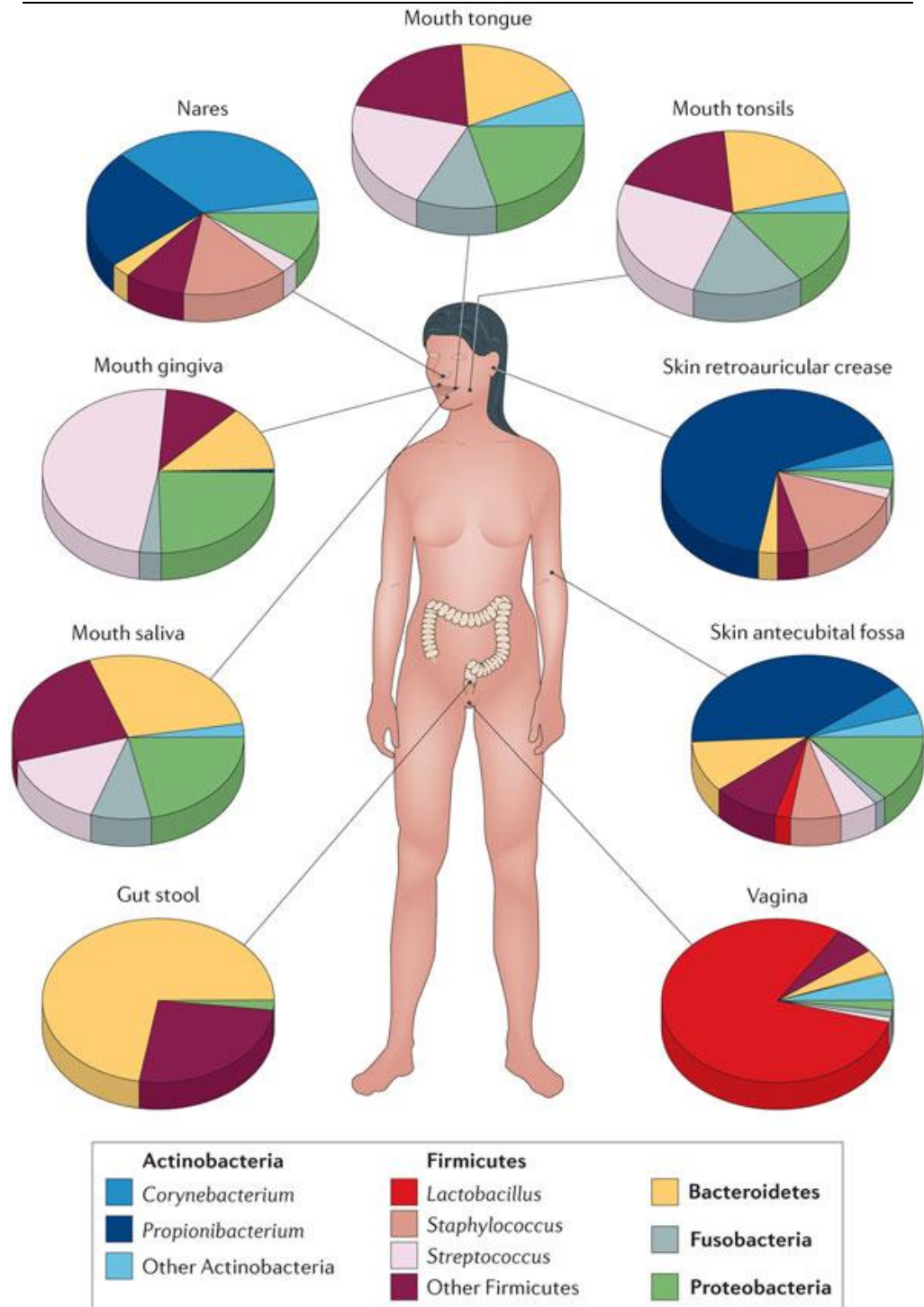
Depuis une dizaine d'années, le marché des probiotiques s'est enrichi de nombreux produits parmi lesquels il est difficile de faire le tri entre les aspects purement « marketing » et les réels effets positifs sur la santé. Le principe de l'utilisation des probiotiques dans les pathologies urogénitales 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 (lactique surtout), de peroxyde d'hydrogène, de bactériocines ou en modulant les réponses inflammatoire et immunitaire de la muqueuse.

L'analyse de la littérature, plus ou moins nombreuse selon les applications, manque encore d'études cliniques d'efficacité standardisées. Même les méta-analyses publiées ces dernières années peinent à conclure mais tendent néanmoins à reconnaître l'intérêt d'approfondir les investigations concernant les propriétés bénéfiques des souches probiotiques et leurs applications urogénitales.

Les produits probiotiques sont majoritairement des produits conseils et le rôle du pharmacien d'officine est donc primordial pour aviser les femmes sur les conditions d'utilisation de ces produits, sans omettre de fournir également des informations simples d'hygiène pouvant participer à la guérison des pathologies urogénitales et à la prévention de leurs éventuelles récurrences.

ANNEXE

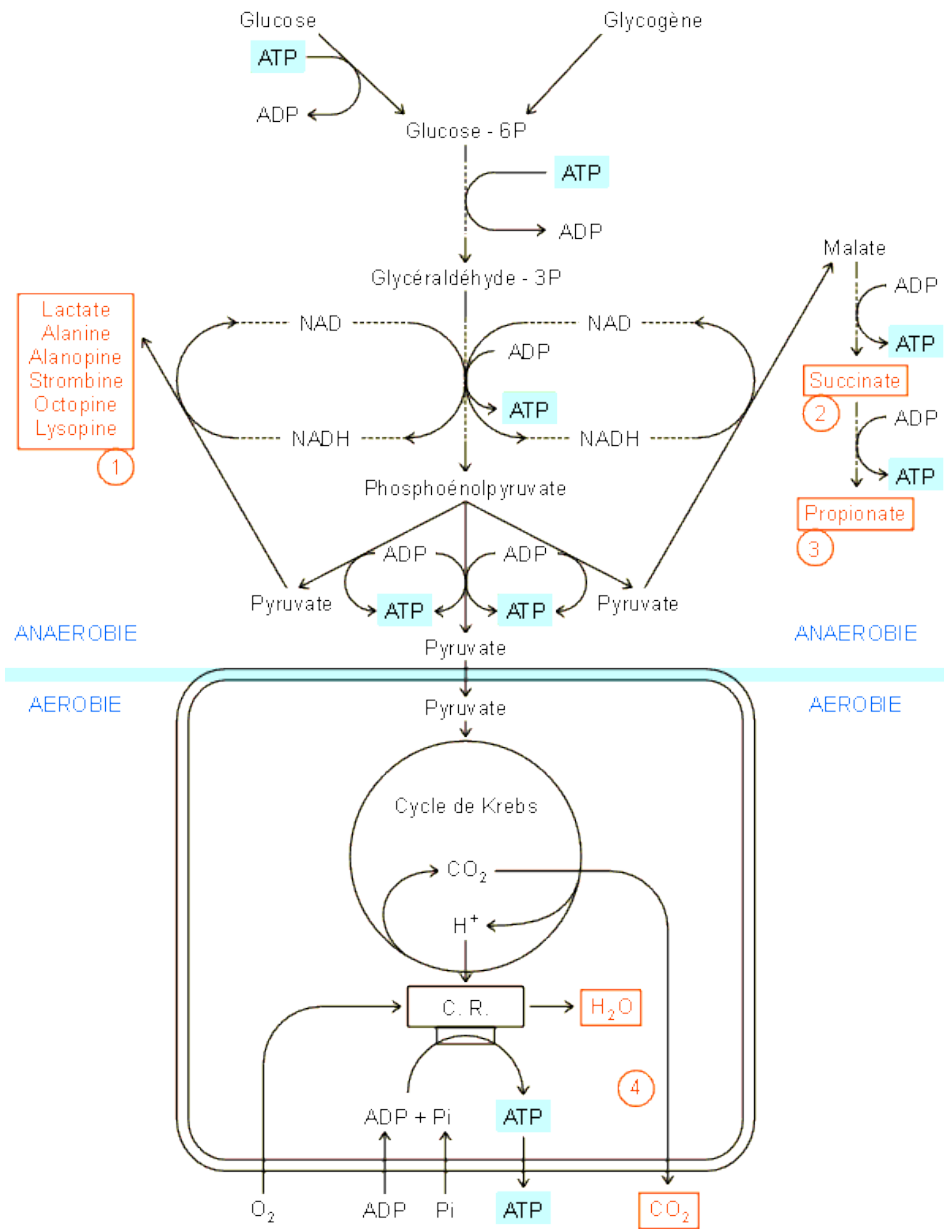
Annexe 1 : COMPOSITION DES FLORES MICROBIENNES HUMAINES



Nature Reviews | Genetics

Concernant la composition de la flore vaginale, il est surprenant de constater l'étroitesse du panel de familles microbiennes présentes dans le milieu sachant qu'elles le colonisent depuis les premiers jours de vie extra-utérine en toute indépendance. Cette régularité dans les ensembles retrouvée chez les individus laisse supposer l'existence d'une forte sélection environnementale ne laissant la possibilité de se développer qu'à un faible nombre d'espèces.

Annexe 2 : glycolyse anaérobie



Annexe 3 : mécanismes inhibiteurs vis- à-vis des pathogènes

Mécanisme	action	description	Exemple de souches concernées
Production d'acides organiques	bactériostatique	Synthèse par glycolyse, induit par acidification du milieu une augmentation de la perméabilité membranaire et une acidification inhibitrice intracellulaire	Un grand nombre de lactobacilles et de bactéries acidophilles
Production de peroxyde d'hydrogène	bactéricide	Production de fonctions radicalaires déstabilisantes conduisant à la destruction de molécules et structures biologiques	L.crispatus L.jensenii
Production de bactériocines	bactéricide	Molécules protéiques créant des pores dans les membranes microbiennes conduisant à l'échappement de matériel intracellulaire conduisant à la mort cellulaire	L.brevis L.casei ssp rhamnosus GR1 L.salivarius
Compétition vis-à-vis des nutriments	bactériostatique	Compétition pour les substances nutritives par action d'enzymes visant les mêmes cibles	L.brevis
Adhésion aux cellules épithéliales	bactériostatique	Formation d'un biofilm de lactobacilles par liaisons spécifiques (adhésines) ou faibles	Lactobacillus sp.
Adhésion à la fibronectine humaine	bactériostatique	Structure fibrillaire ou soluble modulant les interactions par fixation cellulaire spécifiques. Stimulée en milieu acide	
Les biosurfactants	Bactériostatique Bactéricide à forte concentration	Action sur les tensions superficielle permettant l'adhésion intercellulaire, la constitution de biofilm et la stimulation de la croissance sur support organique	L.fermentum L.acidophilus E.coli C.albicans
La co-agrégation	bactériostatique	Fixation intercellulaire entre micro-organismes de souches ou d'espèces différentes visant à priver les pathogènes de l'accès aux récepteurs épithéliaux par encombrement stérique	L.gasseri L.acidophilus L.jensenii

Annexe 4 : lecture des bandelettes urinaires

BAYER

Multistix® 10 SG
Reagent Strips
for Urinalysis

Glucose
Bilirubin
Ketone (Acetoacetic Acid)
Specific Gravity
Blood
pH
Protein
Urobilinogen
Nitrite
Leukocytes

For *In Vitro* Diagnostic Use
100 Strips

2161

Bayer Corporation, Elkhart, IN 46515 USA
AG16516C Rev. 10/97 USA

EXP. **2009-12**

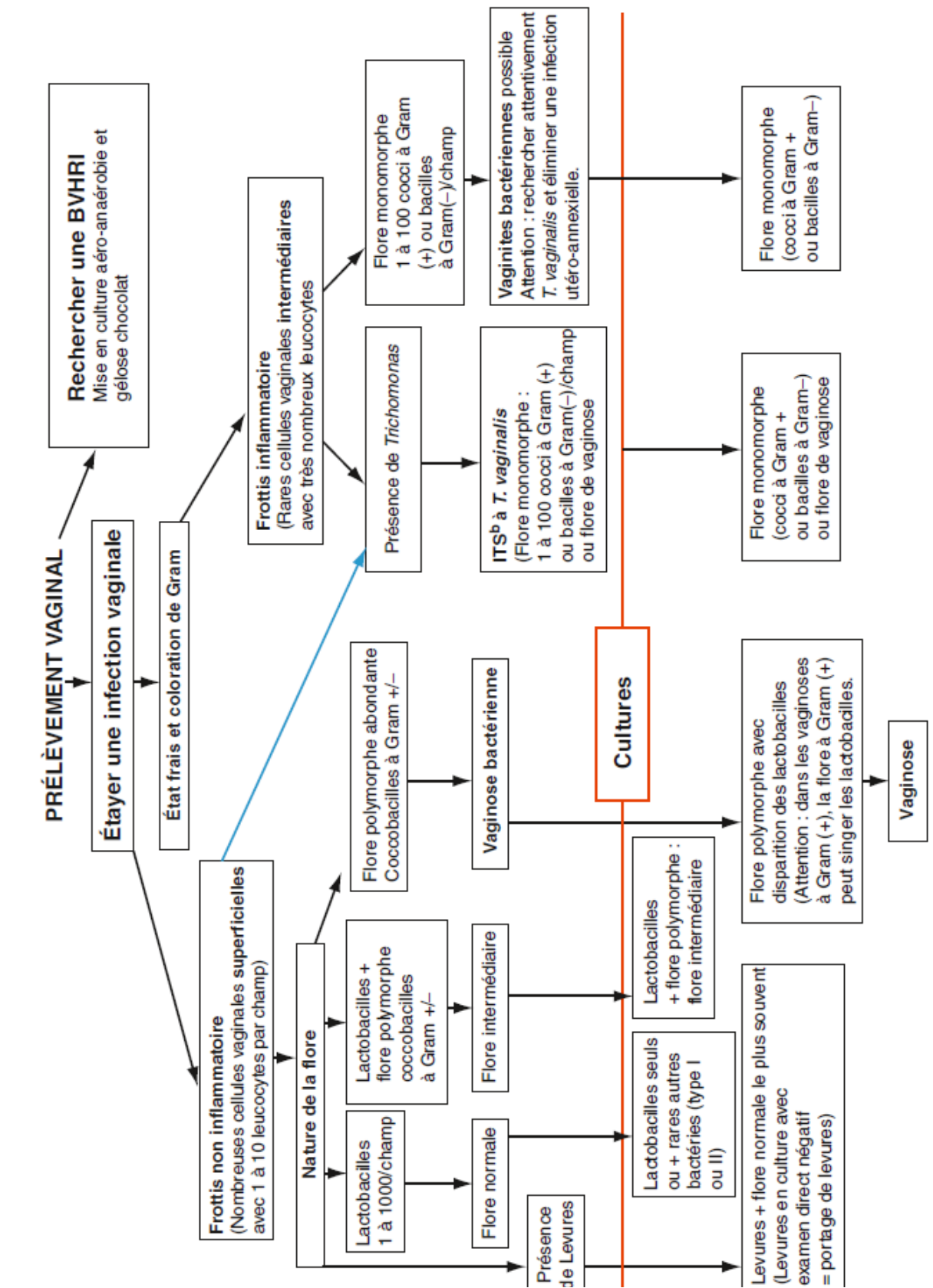
LOT: **8F06C**

TESTS AND READING TIME

TEST	READING TIME	NEGATIVE	TRACE	SMALL	MODERATE	LARGE
LEUKOCYTES	2 minutes	Colorless	Light blue	Small blue dots	Moderate blue dots	Large blue dots
NITRITE	60 seconds	Colorless	Light pink	Light pink	Light pink	Light pink
UROBILINOGEN	60 seconds	Colorless	Light orange	Light orange	Light orange	Light orange
PROTEIN	60 seconds	Colorless	Light green	Light green	Light green	Light green
pH	60 seconds	Orange	Orange	Yellow	Yellow	Yellow
BLOOD	60 seconds	Colorless	Light blue	Light blue	Light blue	Light blue
SPECIFIC GRAVITY	45 seconds	Colorless	Light green	Light green	Light green	Light green
KETONE	40 seconds	Colorless	Light pink	Light pink	Light pink	Light pink
BILIRUBIN	30 seconds	Colorless	Light green	Light green	Light green	Light green
GLUCOSE	30 seconds	Colorless	Light green	Light green	Light green	Light green

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.

Annexe 4 : démarche diagnostique des bactérioses vaginales



Annexe 5 : diagnostique et thérapeutiques des infection à gonocoques et Chlamydia trachomatis[83]

	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Prévalence parmi les urétrites en France	10 %	20-30 %
Incubation	2-5 jours	Plusieurs semaines
Écoulement	90 % (purulent)	40-50 % (clair)
Cervicite	Oui	Oui
Portage asymptomatique	Exceptionnel à l'urètre Plus fréquent pharynx et anus	Au moins 10% à l'urètre
Complications	Prostatite, orchio-épididymite, Septicémie avec signes cutanés et arthrites septiques Salpingite rare	Prostatite, orchio-épididymite Arthrite réactionnelle Syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter Kératoconjonctivite Salpingite ++ Stérilité tubaire +++ GEU ++ Algies pelviennes inflammatoires
Transmission néonatale	Rare conjonctivite purulente	Conjonctivite, pneumopathie
Diagnostic	Examen direct, culture et antibiogramme +++	PCR sur premier jet d'urine chez l'homme et sur prélèvement à l'endocol chez la femme
Dépistage	Pas d'intérêt en dehors des sujets consultant pour une IST, notamment recherche de portage pharyngé voire anal	Intérêt chez les sujets jeunes du fait des complications chez la femme PCR sur le premier jet d'urine dans les 2 sexes

	<i>Gonococcies*</i>	<i>Chlamydioses</i>
Infections non compliquées (urétrite, cervicite, anorectite, pharyngite)	–1 ^{re} intention : ceftriaxone (IM unique de 500 mg) ou céfixime (prise orale unique de 400 mg) –2 ^e intention (pharynx sain) : spectinomycine (IM unique de 2 g)	–1 ^{re} intention : azithromycine (prise orale unique d'1 g) ou doxycycline (100 mg/12 h, per os, 7 jours) –2 ^e intention : érythromycine (500 mg/6 h, per os, 7 jours) ou ofloxacine (300 mg/12 h, per os, 7 j) + PCR systématique entre 3 à 6 mois chez les femmes jeunes
Grossesse (quinolones, cyclines, aminosides contre-indiqués)	Ceftriaxone (IM unique de 500 mg) ou céfixime (prise orale unique de 400 mg)	Azithromycine (prise orale unique d'1 g) + PCR systématique à 1 mois
Conjonctivite de l'adulte	Ceftriaxone (IM unique d'1 g)	
Orchio-épididymite	Ceftriaxone (IM unique de 500 mg) ou céfixime (prise orale unique de 800 mg)	Doxycycline (100 mg/12 h, 10 jours)
Septicémie à gonocoque	Hospitalisation + ceftriaxone (1 g/j, IV, 7 à 10 jours)	–
Infections du nouveau-né	Si ophtalmie : ceftriaxone (IV ou IM unique de 25 à 50 mg/kg, sans dépasser 125 mg)	Si pneumopathie ou ophtalmie : érythromycine (12,5 mg/kg/6 h, per os ou IV, 14 jours)
Endocardite, méningite	Hospitalisation + ceftriaxone (1 à 2 g/j, IV), 10 à 14 jours si méningite et 4 semaines si endocardite	–
Endométrite, salpingite	Ceftriaxone (1 g/j, IV, 14 jours)	Doxycycline (100 mg/12 h, per os ou IV, 14 jours)

* Un traitement anti-*Chlamydia* systématique est toujours indiqué.

BIBLIOGRAPHIE

1. 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.
2. Vaginose Bactérienne [Internet]. [cité 17 nov 2015]. Disponible sur: <http://www.probionov.com/fr/microbiome-dysbiosis-and-diseases/bacterial-vaginosis/>
3. Candidose Vulvo-vaginale [Internet]. [cité 17 nov 2015]. Disponible sur: <http://www.probionov.com/fr/microbiome-dysbiosis-and-diseases/vulvovaginal-candidiasis/>
4. Gordon JI, Klaenhammer TR. A rendezvous with our microbes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(Suppl 1):4513-5.
5. 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.
6. Rampersaud R, Randis TM, Ratner AJ. Microbiota of the upper and lower genital tract. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(1):51-7.
7. APPAREIL URINAIRE [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 22 oct 2015]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/appareil-urinaire/>
8. TP/ED d'histologie PCEM2 (2003-2004) [Internet]. [cité 13 déc 2015]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/TPhis/seance6-uretere&epi04.jpg.3.html>
9. APPAREIL GÉNITAL [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 22 oct 2015]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/appareil-genital/>
10. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009;19(12):2317-23.
11. Human Microbiome Project DACC - Home [Internet]. [cité 17 nov 2015]. Disponible sur: <http://hmpdacc.org/>
12. Consortium THMP. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486(7402):207-14.
13. Farage MA, Maibach HI. Morphology and physiological changes of genital skin and mucosa. *Curr Probl Dermatol.* 2011;40:9-19.

14. Hickey RJ, Zhou X, Pierson JD, Ravel J, Forney LJ. Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective. *Transl Res.* 2012;160(4):267-82.
15. Petrova MI, van den Broek M, Balzarini J, Vanderleyden J, Lebeer S. Vaginal microbiota and its role in HIV transmission and infection. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37(5):762-92.
16. Cole LA, Ladner DG, Byrn FW. The normal variabilities of the menstrual cycle. *Fertil Steril.* 2009;91(2):522-7.
17. Cycle menstruel. In: Wikipédia [Internet]. 2015 [cité 13 déc 2015]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Cycle_menstruel&oldid=120553923
18. Microbial Ecology in States of Health and Disease: Workshop Summary [Internet]. Washington, D.C.: National Academies Press; 2014 [cité 17 nov 2015]. Disponible sur: <http://www.nap.edu/catalog/18433>
19. Li K, Bihan M, Yooseph S, Methé BA. Analyses of the microbial diversity across the human microbiome. *PloS One.* 2012;7(6):e32118.
20. Zhou X. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology.* 2004;150(8):2565-73.
21. 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.
22. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science.* 2009;326(5960):1694-7.
23. Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *ISME J.* 2007;1(2):121-33.
24. Fettweis JM, Brooks JP, Serrano MG, Sheth NU, Girerd PH, Edwards DJ, et al. Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry. *Microbiol Read Engl.* 2014;160(Pt 10):2272-82.
25. Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H, Brown CJ, Schütte U, et al. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010;58(2):169-81.
26. Lopes dos Santos Santiago G, Cools P, Verstraelen H, Trog M, Missine G, Aila NE, et al. Longitudinal Study of the Dynamics of Vaginal Microflora during Two Consecutive Menstrual Cycles. Ahmed N, éditeur. *PLoS ONE.* 2011;6(11):e28180.
27. Linhares IM, Summers PR, Larsen B, Giraldo PC, Witkin SS. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(2):120.e1-120.e5.

28. FMPMC-PS - Histologie : organes, systèmes et appareils - Niveau PCEM2 - DCEM1 [Internet]. [cité 10 nov 2015]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/POLY.Chp.8.2.html>
29. Spear GT, French AL, Gilbert D, Zariffard MR, Mirmonsef P, Sullivan TH, et al. Human α -amylase Present in Lower-Genital-Tract Mucosal Fluid Processes Glycogen to Support Vaginal Colonization by Lactobacillus. *J Infect Dis*. 2014;210(7):1019-28.
30. Lepargneur J.P., Rousseau V., « rôle protecteur d la flore de Doderleïn » Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction 2002 ; 31 : 485-494. In.
31. Spear GT, McKenna M, Landay AL, Makinde H, Hamaker B, French AL, et al. Effect of pH on Cleavage of Glycogen by Vaginal Enzymes. Zhong G, éditeur. PLOS ONE. 2015;10(7):e0132646.
32. Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. Effects of single- and multi-strain probiotics on biofilm formation and in vitro adhesion to bladder cells by urinary tract pathogens. Anaerobe [Internet]. [cité 13 mars 2014]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996414000109>
33. Oâ€™Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. Vaginal pH and Microbicidal Lactic Acid When Lactobacilli Dominate the Microbiota. Landay A, éditeur. PLoS ONE. 2013;8(11):e80074.
34. Gorodeski GI, Hopfer U, Liu CC, Margles E. Estrogen Acidifies Vaginal pH by Up-Regulation of Proton Secretion via the Apical Membrane of Vaginal-Ectocervical Epithelial Cells. *Endocrinology*. 2005;146(2):816-24.
35. 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.
36. Ventolini G. Vaginal Lactobacillus: biofilm formation in vivo – clinical implications. *Int J Womens Health*. 2015;243.
37. Srinivasan S, Fredricks DN. The Human Vaginal Bacterial Biota and Bacterial Vaginosis. *Interdiscip Perspect Infect Dis* [Internet]. 2008 [cité 17 nov 2015];2008. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2648628/>
38. Microsoft Word - IVU _1_ clinique 12-10-06 - 93_IVU-adulte.pdf [Internet]. [cité 20 nov 2015]. Disponible sur: http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/MIC/Ressources_locales/Nephrologie/93_IVU-adulte.pdf
39. Lecomte F. Les infections urinaires de la femme. John Libbey Eurotext; 1999. 198 p.
40. Klemmer PJ, Mattern WD. 135 - Infection du tractus urinaire. In: Runge MS, Greganti MA, éditeurs. Médecine interne de Netter (Second edition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2011 [cité 13 mars 2014]. p. 1036-43. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294709517001353>
41. Sacoun E. Infection urinaire de la femme enceinte. *Option/Bio*. 2010;21(434):12.

42. Belin N, Bontemps F. Les infections urinaires. *Le moniteur des pharmaciens*. 2012;1-16.
43. Draï J, Bessedé T, Patard J-J. Prise en charge des pyélonéphrites aiguës. *Prog En Urol*. 2012;22(14):871-5.
44. Lobel B, Soussy C. Les infections urinaires. Springer Science & Business Media; 2007. 242 p.
45. Szalo I., Taminau B, Mainil J. le lipopolysaccharide d'Escherichia coli: structure, biosynthèse et rôle. *ann Med Vet*. 2006;108-24.
46. 02-ECBU.PDF [Internet]. [cité 22 nov 2015]. Disponible sur: <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/02-ECBU.PDF>
47. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte. *Médecine Mal Infect*. 2008;38, Supplement 3:S203-52.
48. Bergogne-Bérézin E. Antibiothérapie des infections urinaires basses: bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. *Antibiotiques*. 2006;8(1):51-62.
49. Lagrange F. Bibliothèque. *Pharm Hosp Clin*. 2013;48(2):145.
50. Gompel A, Moraillon M. Leucorrhées. In: Du symptôme à la prescription en médecine générale [Internet]. Elsevier; 2009 [cité 25 nov 2015]. p. 508-11. Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9782294017810500947>
51. Prélèvements génitaux [Internet]. [cité 20 nov 2015]. Disponible sur: <http://www.microbiologie-medicale.fr/produits-pathologiques/prelevement-genitaux.html>
52. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med*. 1983;74(1):14-22.
53. Sha BE, Chen HY, Wang QJ, Zariffard MR, Cohen MH, Spear GT. Utility of Amsel Criteria, Nugent Score, and Quantitative PCR for Gardnerella vaginalis, Mycoplasma hominis, and Lactobacillus spp. for Diagnosis of Bacterial Vaginosis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4607-12.
54. Donders GGG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21(3):355-73.
55. Bohbot J-M, Lepargneur J-P. La vaginose en 2011 : encore beaucoup d'interrogations. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2012;40(1):31-6.
56. Menard_2012.pdf [Internet]. [cité 19 nov 2015]. Disponible sur: http://gapext.chru-lille.fr/fichiers/717/Articles%20en%20lien%20avec%20la%20vaginose%20Menard_2012.pdf

57. 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.
58. Quentin R, Lanotte P, Mereghetti L. Chapitre 17 - Prélèvements génitaux chez la femme. 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 25 nov 2015]. p. 237-54. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294096686000263>
59. 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.
60. 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>
61. Livengood CH. Bacterial Vaginosis: An Overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(1):28-37.
62. 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>
63. Dubreuil L. Chapitre 41 - Bactéries anaérobies strictes. 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. 565-81. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978229409668600041X>
64. Bergogne-Bérézin E. Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. *Antibiotiques.* 2007;9(2):139-44.
65. Askienazy-Elbhar M. Infection du tractus génital masculin : le point de vue du bactériologiste. *Gynécologie Obstétrique Fertil* 2005;33(9):691-7.
66. Notice patient - FLAGYL 500 mg, comprimé pelliculé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 26 nov 2015]. Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=61659061&typedoc=N>
67. Menard J-P, Bretelle F. Vaginose bactérienne et accouchement prématuré. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2012;40(1):48-54.
68. Cauci S, Hitti J, Noonan C, Agnew K, Quadrifoglio F, Hillier SL, et al. Vaginal hydrolytic enzymes, immunoglobulin A against Gardnerella vaginalis toxin, and risk of

- early preterm birth among women in preterm labor with bacterial vaginosis or intermediate flora. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187(4):877-81.
69. Wittemer C, Bettahar-Lebugle K, Ohl J, Rongières C, Viville S, Nisand I. Colonisation bactérienne vaginale anormale et implantation en assistance médicale à la procréation. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2004;32(2):135-9.
 70. Allsworth JE, Peipert JF. Severity of bacterial vaginosis and the risk of sexually transmitted infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205(2):113.e1-113.e6.
 71. Gallo MF, Macaluso M, Warner L, Fleenor ME, Hook III EW, Brill I, et al. Bacterial Vaginosis, Gonorrhoea, and Chlamydial Infection Among Women Attending a Sexually Transmitted Disease Clinic: A Longitudinal Analysis of Possible Causal Links. *Ann Epidemiol*. 2012;22(3):213-20.
 72. de Chauvin MF. 23 - Candidose vulvovaginale. In: Janier M, éditeur. Les infections sexuellement transmissibles (1e édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 26 nov 2015]. p. 134-9. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294088742000232>
 73. Amouri I, Abbes S, Sellami H, Makni F, Sellami A, Ayadi A. La candidose vulvovaginale : revue. *J Mycol Médicale J Med Mycol*. 2010;20(2):108-15.
 74. 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.
 75. 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. Yeasts [Internet]. [cité 9 déc 2015]. Disponible sur: <http://www.microbiologybook.org/mycology/mycology-3.htm>
 77. Pihet M, Marot A. Diagnostic biologique des candidoses. *Rev Francoph Lab*. 2013(450):47-61.
 78. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;178(2):203-11.
 79. Coudert P, Dreyfuss G. Physiopathologie et symptomatologie. *Actual Pharm*. 2010;49(500):23-4.
 80. Alcaraz I, Vermersch-Langevin A, Mazars E. 11 - Trichomonose. In: Janier M, éditeur. Les infections sexuellement transmissibles (1e édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 26 nov 2015]. p. 62-5. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294088742000116>

81. La Ruche G, Goulet V, Bouyssou A, Sednaoui P, De Barbeyrac B, Dupin N, et al. Épidémiologie actuelle des infections sexuellement transmissibles bactériennes en France. *Presse Médicale*. 2013;42(4, Part 1):432-9.
82. de Barbeyrac B, Clerc M, Peuchant O, Bébéar C. 9 - Chlamydia trachomatis. In: Janier M, éditeur. Les infections sexuellement transmissibles (1e édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 13 mars 2014]. p. 46-56. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294088742000098>
83. Cedef. Item 95 – Maladies sexuellement transmissibles : infections urogénitales à gonocoque et Chlamydia trachomatis (en dehors de la maladie de Nicolas-Favre). *Ann Dermatol Vénérologie*. 2012;139(11, Supplément):A57-61.
84. Gallay A, Bouyssou A, Lot F, Brouard C, Goulet V. 7 - Épidémiologie des infections sexuellement transmissibles en France. In: Janier M, éditeur. Les infections sexuellement transmissibles (1e édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 13 mars 2014]. p. 32-9. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294088742000074>
85. Barrons R, Tassone D. Use of Lactobacillus probiotics for bacterial genitourinary infections in women: A review. *Clin Ther*. 2008;30(3):453-68.
86. Probiotics: 100 years (1907-20 07) after Elie Metchnikoff's Observation [Internet]. [cité 6 déc 2015]. Disponible sur: http://www.pasteur.fr/infosci/biblio/ressources/histoire/textes_integraux/metchnikoff/formatexmetabio2007anukam.pdf
87. Foligné B, Daniel C, Pot B. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(3):284-92.
88. INFECTIONS URO-GENITALES DE LA FEMME [Internet]. SlideServe. [cité 9 déc 2015]. Disponible sur: <http://www.slideserve.com/marlo/infections-uro-genitales-de-la-femme>
89. Reid G. The Importance of Guidelines in the Development and Application of Probiotics. *Curr Pharm Des*. 2005;11(1):11-6.
90. Sutton A. Product Development of Probiotics as Biological Drugs. *Clin Infect Dis*. 2008;46(Supplément 2):S128-32.
91. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food [Internet]. [cité 6 déc 2015]. Disponible sur: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>
92. Butel M-J. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *J Anti-Infect* [Internet]. [cité 13 mars 2014]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210654514000118>
93. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*. 2000;84(3):197-215.

94. 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.
95. Perraut A. Séchage des probiotiques : un procédé innovant, simple et efficace [Internet]. 2015 [cité 7 déc 2015]. Disponible sur: <http://www.inra.fr/Entreprises-Monde-agricole/Resultats-innovation-transfert/Toutes-les-actualites/Sechage-des-probiotiques>
96. EVALUATION D OLIGOSACCHARIDES A EFFET PREBIOTIQUE VIS-A-VIS DE LA MICROFLORE VAGINALE [Internet]. [cité 8 déc 2015]. Disponible sur: <http://docplayer.fr/7099146-Evaluation-d-oligosaccharides-a-effet-prebiotique-vis-a-vis-de-la-microflore-vaginale.html>
97. 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.
98. Gardiner GE, Heinemann C, Bruce AW, Beuerman D, Reid G. Persistence of *Lactobacillus fermentum* RC-14 and *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 but not *L. rhamnosus* GG in the human vagina as demonstrated by randomly amplified polymorphic DNA. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9(1):92-6.
99. Hummelen R, Chagalucha J, Butamanya NL, Cook A, Habbema JDF, Reid G. *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. reuteri* RC-14 to prevent or cure bacterial vaginosis among women with HIV. *Int J Gynecol Obstet.* 2010;111(3):245-8.
100. Mackay AD, Taylor MB, Kibbler CC, Hamilton-Miller JMT. *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;5(5):290-2.
101. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr.* 2006;83(6):1256-64.
102. Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, Hammerman C, Heimbach J, Hörmannspurger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes.* 2010;1(3):164-85.
103. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(2):261-7.
104. Probiotiques, prébiotiques, symbiotiques : définitions. *Cah Nutr Diététique.* 2007;42, Supplement 2:7.
105. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J Nutr.* 1995;125(6):1401-12.
106. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW. Probiotic *Lactobacillus* dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2001;32(1):37-41.

107. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B. Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2001;30(1):49-52.
108. Antonio MAD, Rabe LK, Hillier SL. Colonization of the rectum by *Lactobacillus* species and decreased risk of bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2005;192(3):394-8.
109. Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beuerman D, Poehner R, et al. Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;35(2):131-4.
110. Heinemann C, van Hylckama Vlieg JE, Janssen DB, Busscher HJ, van der Mei HC, Reid G. Purification and characterization of a surface-binding protein from *Lactobacillus fermentum* RC-14 that inhibits adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;190(1):177-80.
111. Reid G, Kim SO, Köhler GA. Selecting, testing and understanding probiotic microorganisms. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006;46(2):149-57.
112. Morelli L, Zonenenschain D, Del Piano M, Cognein P. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J Clin Gastroenterol.* 2004;38(6 Suppl):S107-10.
113. Petricevic L, Unger FM, Viernstein H, Kiss H. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of oral lactobacilli to improve the vaginal flora of postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;141(1):54-7.
114. Martinez RCR, Franceschini SA, Patta MC, Quintana SM, Gomes BC, De Martinis ECP, et al. Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2 g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, and *Lactobacillus reuteri* RC-14: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Can J Microbiol.* 2009;55(2):133-8.
115. Anukam K, Osazuwa E, Ahonkhai I, Ngwu M, Osemene G, Bruce AW, et al. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microbes Infect Inst Pasteur.* 2006;8(6):1450-4.
116. Spurbeck RR, Arvidson CG. Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiol.* 2011;6(5):567-82.
117. Reid G, Bruce AW. Selection of *Lactobacillus* Strains for Urogenital Probiotic Applications. *J Infect Dis.* 2001;183(Supplement 1):S77-80.
118. Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58(2):266-72.
119. Valore EV, Park CH, Igreti SL, Ganz T. Antimicrobial components of vaginal fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(3):561-8.

120. Olmsted SS, Khanna KV, Ng EM, , et al. Low pH immobilizes and kills human leukocytes and prevents transmission of cell-associated HIV in a mouse model. *BMC Infect Dis.* 2005;5:79.
121. Lai SK, Hida K, Shukair S, , et al. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Is Trapped by Acidic but Not by Neutralized Human Cervicovaginal Mucus. *J Virol.* 2009;83(21):11196-200.
122. Al Kassaa I, Hober D, Hamze M, Chihib NE, Drider D. Antiviral potential of lactic Acid bacteria and their bacteriocins. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2014;6(3-4):177-85.
123. Balkus JE, Mitchell C, Agnew K, , et al. Detection of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in the vagina: a comparison of culture and quantitative PCR among HIV-1 seropositive women. *BMC Infect Dis.* 2012;12:188.
124. Balzarini J. Targeting the glycans of glycoproteins: a novel paradigm for antiviral therapy. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(8):583-97.
125. Ivec M, Botić T, Koren S, Jakobsen M, Weingartl H, Cencič A. Interactions of macrophages with probiotic bacteria lead to increased antiviral response against vesicular stomatitis virus. *Antiviral Res.* 2007;75(3):266-74.
126. 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.
127. 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.
128. Vicariotto F. Effectiveness of an association of a cranberry dry extract, D-mannose, and the two microorganisms *Lactobacillus plantarum* LP01 and *Lactobacillus paracasei* LPC09 in women affected by cystitis: a pilot study. *J Clin Gastroenterol.* 2014;48 Suppl 1:S96-101.
129. Wilson JD, Lee RA, Balen AH, Rutherford AJ. Bacterial vaginal flora in relation to changing oestrogen levels. *Int J STD AIDS.* 2007;18(5):308-11.
130. Drago L, De Vecchi E, Nicola L, Zucchetti E, Gismondo MR, Vicariotto F. Activity of a *Lactobacillus acidophilus*-based douche for the treatment of bacterial vaginosis. *J Altern Complement Med N Y N.* 2007;13(4):435-8.
131. Mastromarino P, Macchia S, Meggiorini L, et al. Effectiveness of *Lactobacillus*-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;15(1):67-74.
132. Larsson P-G, Stray-Pedersen B, Rytting KR, Larsen S. Human lactobacilli as supplementation of clindamycin to patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6-month, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *BMC Womens Health.* 2008;8:3.

133. Eriksson K, Carlsson B, Forsum U, Larsson P-G. A double-blind treatment study of bacterial vaginosis with normal vaginal lactobacilli after an open treatment with vaginal clindamycin ovules. *Acta Derm Venereol.* 2005;85(1):42-6.
134. Anukam KC, Osazuwa E, Osemene GI, Ehigiagbe F, Bruce AW, Reid G. Clinical study comparing probiotic Lactobacillus GR-1 and RC-14 with metronidazole vaginal gel to treat symptomatic bacterial vaginosis. *Microbes Infect Inst Pasteur.* 2006;8(12-13):2772-6.
135. 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.
136. Pirotta M, Gunn J, Chondros P, et al. Effect of lactobacillus in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ.* 2004;329(7465):548.
137. 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.
138. Chang TL-Y, Chang C-H, Simpson DA, Xu Q, Martin PK, Lagenaur LA, et al. Inhibition of HIV infectivity by a natural human isolate of Lactobacillus jensenii engineered to express functional two-domain CD4. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100(20):11672-7.
139. Chancey CJ, Khanna KV, Seegers JFML, et al. Lactobacilli-Expressed Single-Chain Variable Fragment (scFv) Specific for Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) Blocks Cell-Associated HIV-1 Transmission across a Cervical Epithelial Monolayer. *J Immunol.* 2006;176(9):5627-36.
140. Pusch O, Kalyanaraman R, Tucker LD, Wells JM, Ramratnam B, Boden D. An anti-HIV microbicide engineered in commensal bacteria: secretion of HIV-1 fusion inhibitors by lactobacilli. *AIDS Lond Engl.* 2006;20(15):1917-22.
141. Giomarelli B, Provvedi R, Meacci F, et al. The microbicide cyanovirin-N expressed on the surface of commensal bacterium Streptococcus gordonii captures HIV-1. *AIDS Lond Engl.* 2002;16(10):1351-6.
142. Liu X, Lagenaur LA, Simpson DA, et al. Engineered Vaginal Lactobacillus Strain for Mucosal Delivery of the Human Immunodeficiency Virus Inhibitor Cyanovirin-N. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(10):3250-9.
143. Pusch O, Boden D, Hannify S, et al. Bioengineering lactic acid bacteria to secrete the HIV-1 virucide cyanovirin. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;40(5):512-20.
144. Zabihollahi R, Motevaseli E, Sadat SM, Azizi-Saraji AR, Asaadi-Dalaie S, Modarressi MH. Inhibition of HIV and HSV infection by vaginal lactobacilli in vitro and in vivo. *Daru J Fac Pharm Tehran Univ Med Sci.* 2012;20(1):53.

145. Conti C, Malacrino C, Mastromarino P. Inhibition of herpes simplex virus type 2 by vaginal lactobacilli. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* 2009;60 Suppl 6:19-26.
146. Motevaseli E, Shirzad M, Akrami SM, Mousavi A-S, Mirsalehian A, Modarressi MH. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate. *J Med Microbiol.* 2013;62(Pt 7):1065-72.
147. Verhoeven V, Renard N, Makar A, et al. Probiotics enhance the clearance of human papillomavirus-related cervical lesions: a prospective controlled pilot study. *Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP.* 2013;22(1):46-51.
148. Rizzo A, Fiorentino M, Buommino E, Donnarumma G, Losacco A, Bevilacqua N. Lactobacillus crispatus mediates anti-inflammatory cytokine interleukin-10 induction in response to Chlamydia trachomatis infection in vitro. *Int J Med Microbiol.* 2015;305(8):815-27.
149. Mastromarino P, Di Pietro M, Schiavoni G, Nardis C, Gentile M, Sessa R. Effects of vaginal lactobacilli in Chlamydia trachomatis infection. *Int J Med Microbiol.* 2014;304(5-6):654-61.
150. Vielfort K, Sjölander H, Roos S, Jonsson H, Aro H. Adherence of clinically isolated lactobacilli to human cervical cells in competition with Neisseria gonorrhoeae. *Microbes Infect.* 2008;10(12-13):1325-34.
151. Amant DCS, Valentin-Bon IE, Jerse AE. Inhibition of Neisseria gonorrhoeae by Lactobacillus Species That Are Commonly Isolated from the Female Genital Tract. *Infect Immun.* 2002;70(12):7169-71.
152. Kim YH, Kim CH, Cho MK, Na JH, Song TB, Oh JS. Hydrogen peroxide-producing Lactobacilli in the vaginal flora of pregnant women with preterm labor with intact membranes. *Int J Gynecol Obstet.* 2006;93(1):22-7.
153. Yang S, Li W, Challis JRG, Reid G, Kim SO, Bocking AD. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GR-1 supernatant prevents lipopolysaccharide-induced preterm birth and reduces inflammation in pregnant CD-1 mice. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(1):44.e1-44.e12.

Cruchet Aude : Intérêt de l'utilisation des probiotiques en thérapeutique urogénitale

TH. D. Pharmacie : Bordeaux/ 2016 ; n°

Résumé :

Les pathologies urogénitales constituent aujourd'hui l'un des premiers motifs de consultation au comptoir du pharmacien d'officine. Face au développement des résistances bactériennes et au taux de récurrence élevé de ces pathologies, les probiotiques constituent aujourd'hui une alternative préventive comme curative prometteuse. Depuis ces vingt dernières années, avec le développement des technologies biomoléculaires, leurs mécanismes d'action bénéfiques ont largement été décrits au niveau gastro-intestinal. Ce n'est que plus récemment que la recherche s'est intéressée à l'impact de notre flore sur la santé urogénitale. En effet, il existe une co-dépendance entre les microorganismes la composant et l'homéostasie de ce microbiote. Des propriétés antimicrobiennes et immuno-modulatrices, leur facilité d'utilisation par voie orale ou locale ainsi que leur sécurité d'utilisation font de ces produits des outils de conseil complémentaires dans le traitement des pathologies urogénitales à la disposition du pharmacien d'officine.

Title : Interest of probiotics use in urogenital therapeutic

Summary:

Urogenital diseases are now one of the leading reasons for consultation at the pharmacist counter. With the development of bacterial resistance and their high recurrence rate, probiotics are now a promising preventive or curative alternative. Over the past twenty years, with the development of biomolecular technologies, their beneficial action mechanisms have been widely described on the gastro-intestinal level. It is only recently that research has focused on the impact of our flora in the urogenital health. Indeed, there is a co-dependence between the component microorganisms and homeostasis of this microbiota. Antimicrobial and immunomodulatory properties, oral or local use and the safety of these products make it complementary counseling tools in the treatment of urogenital diseases available for the pharmacist.

Mots clés : probiotiques, urogénital, flore, dysbiose, candidose, vaginose bactérienne, MST, immunomodulation

Keywords: probiotics, urogenital, flora, dysbiosis, candidiasis, vaginal bacteriosis, STD, immunomodulation

Laboratoire de Pharmacognosie

UFR des Sciences Pharmaceutiques

Université Bordeaux Segalen

146, Rue Léo Saignat

33 076 Bordeaux Cedex

