

**THESE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 13 février 2023
Par Mme BOULANGER Rachel

**Le microbiote vaginal
au cours de la vie d'une femme,
Conseils à l'officine et usage des probiotiques**

Membres du jury :

Président : Mr Foligné Benoît, Professeur des Université de Lille, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Mme Singer Elisabeth, Maitre de conférences, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Membres extérieurs :

Mme Delattre Sandra, pharmacien adjoint, Pharmacie Mivoix de Calais

Mme Gleasterman Elise, pharmacien adjoint, Pharmacie Desir à Lille

THESE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 13 février 2023
Par Mme BOULANGER Rachel

Le microbiote vaginal
au cours de la vie d'une femme,
Conseils à l'officine et usage des probiotiques

Membres du jury :

Président : Mr Foligné Benoît, Professeur des Université de Lille, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Mme Singer Elisabeth, Maitre de conférences, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Membres extérieurs :

Mme Delattre Sandra, pharmacien adjoint, Pharmacie Mivoix de Calais
Mme Gleasterman Elise, pharmacien adjoint, Pharmacie Desir à Lille

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Christel BEAUCOURT
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens	Kathleen O'CONNOR
Vice-président Ressources humaines	Jérôme FONCEL
Directrice Générale des Services	Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen	Guillaume PENEL
Vice-Doyen Recherche	Éric BOULANGER
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoires-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyenne Vie de Campus	Claire PINÇON
Vice-Doyen International et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyen étudiant	Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85

M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82

Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87

Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa- Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie- Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre- Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86

Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87

M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Remerciements :

A mon directeur de thèse, Mme Elisabeth Singer, pour m'avoir fait l'honneur de diriger et d'encadrer ma thèse. Merci pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, vos conseils, votre disponibilités, votre aide et pour votre rapidité à me relire. Tout cela a permis l'aboutissement de ma thèse. Je vous suis très reconnaissante. Merci d'avoir accepté d'avancer la date de la soutenance de ma thèse.

Au président du jury, Mr Foligné, merci pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury à l'occasion de ma soutenance de thèse. Je vous remercie d'avoir accepté d'avancer la date de ma soutenance, ce jour restera gravé dans ma mémoire j'en suis convaincue.

Aux membres du jury, merci à Sandra et Elise d'avoir accepté de devenir membre du jury de ma thèse. J'espère que ma thèse vous a plu et que vous passerez une bonne soirée lors de ma soutenance.

A mes parents, je voulais vous remercier du fond du cœur pour m'avoir poussé depuis toujours pour faire des études. Mes plus grands remerciements vous sont dédiés. De m'avoir aidé à tenir depuis la PACES. D'être venu avec moi à Douai, où malgré tout, on s'est créé de bons souvenirs. J'espère que vous êtes et que vous serez toujours fiers de moi. Merci pour votre confiance, votre écoute : des heures au téléphones passées, votre aide, votre patience (et il en fallu..!) et votre amour. Votre fille qui vous aime.

A ma sœur, merci de m'avoir toujours soutenue. Tu as toujours su m'écouter quand ça n'allait pas, et tu m'as toujours motivé comme tu le pouvais. A ces longues journées en BU qui resteront toujours dans ma mémoire. Je t'aime ma Clarisse d'amour.

A mon amour, Gontran. Merci infiniment pour tout, tout ce que tu as fait et tout ce que tu fais quotidiennement pour moi. J'ai de la chance que tu comprennes (car tu vis aussi) ces études. Merci pour ton soutien permanent et ton écoute. Merci d'avoir passé du temps à relire ma thèse. Merci d'avoir toujours tout fait pour que je sois "bien", sans stress, sans tracas. Je t'aime très fort. J'espère que tu es fière de ta petite pharmacienne, et j'ai hâte de venir voir ta soutenance l'année prochaine !

A Justine, ma binôme, mon amie, je remercie la vie de m'avoir permis de te rencontrer pendant mes études. Merci pour ses 5 ans d'années d'étude passées ensemble. Merci de faire partie de mes meilleures amies dans ma vie. J'ai adoré travailler avec toi toutes ses années et je suis déjà nostalgique de tous ces bons moments ! J'ai hâte qu'on ait enfin le temps de se faire des petits week-end ensemble ! Merci pour tous les bons moments que j'ai pu passer avec toi, vraiment merci ! Merci pour tout ton soutien...

A Sandra, mon modèle ! Tu es la pharmacienne parfaite pour moi depuis la 3e année. Merci pour tout ce que tu as pu faire pour moi, depuis toutes ces années ! Merci pour tes précieux conseils et merci de tout le temps que tu as pu prendre pour moi. Je me réjouis d'être bientôt ta consoeur :). J'espère que notre amitié continuera encore longtemps et peut-être à l'avenir, redevenir ta collègue (on ne sait jamais) !

A mes amies de la fac, notre amitié s'est créée à la fac et on a pu passer de bons moments, j'espère que notre amitié ne s'arrêtera pas là... Caroline, Anaïs, Florine, Inès, merci pour tous ces bons moments passés ensemble.

A Elise, merci pour le temps que tu passes pendant mon stage pour m'aider, m'expliquer, j'espère encore apprendre beaucoup de toi ! C'est un énorme plaisir de travailler avec toi ! Merci également pour tout ton soutien en cette période compliquée...

A tous les gens que je n'ai pas cités, qui m'ont aidé de loin ou de près, m'ont soutenue, merci !

SOMMAIRE :

INTRODUCTION	20
I) Le microbiote vaginal	21
A) Composition et rôles	21
1) Composition	21
i) Présentation de ce microbiote	21
ii) Composition qualitative et quantitative de ce microbiote	21
2) Rôles	27
i) Rôle d'inhibition de la croissance des pathogènes potentiels	27
ii) Limitation de l'expansion du pathogène potentiel	29
iii) inhibition de l'adhérence du pathogène potentiel	31
iv) Le pH vaginal	33
v) Le score de Nugent	34
B) Evolution du microbiote vaginal au cours de la vie d'une femme	36
1) De la naissance jusqu'à l'enfance	36
2) A la puberté	37
3) Pendant les menstruations	38
4) Chez la femme enceinte	38
5) A la ménopause	39
II) Les dysbioses d'origines exogènes	40
A) Les médicaments et dispositifs médicaux	40
1) Les antibiotiques	40
2) Les corticoïdes	41
3) Les contraceptifs oraux	42
4) Le progestatif sous cutané	43
5) Les dispositifs intra utérins (DIU)	44
6) L'anneau vaginal	44
7) Le diaphragme et les spermicides	46
8) Récapitulatif des méthodes contraceptives médicamenteuses	46
9) Le préservatif masculin	47
10) La radiothérapie	49
11) Nouvelle classe d'antidiabétiques oraux : les inhibiteurs du SGLT2	50
B) Mode de vie	51
1) L'hygiène intime	51
2) Les différents produits utilisables et utilisés	52
i) Les antiseptiques	53
ii) Les déodorants et lingettes intimes	53

3) L'épilation intégrale définitive	54
4) Les règles hygiéno diététiques	54
C) Les rapports sexuels	55
1) L'impact des rapports sexuels	55
2) L'impact du nombre de rapport sexuels et des comportements pendant ceux-ci	56
3) Les conséquences des premiers rapports sexuels	56
4) Des rapports sexuels irréguliers	57
5) Les relations homosexuelles	58
6) L'utilisation du lubrifiant	58
i) les caractéristiques des bons/ mauvais lubrifiants	58
ii) Liste des lubrifiants testés par l'OMS	59
D) Consommation	59
1) Le tabac	59
2) Le cannabis	60
III) Les dysbioses d'origines endogènes	61
A) Les pathologies	61
1) Le diabète	61
2) L'immunodépression : l'exemple du VIH	62
3) Le cancer du col de l'utérus	63
4) Les MICI chez une femme enceinte	63
B) Les influences hormonales	64
C) Le stress	66
IV) Les Probiotiques	67
A) Les généralités	67
1) Définitions et historique	67
2) Réglementation et mise sur le marché	68
3) Etiquetage	70
4) Classification	71
5) Mécanismes d'action des probiotiques	72
6) Caractéristiques, formulations et concentration des probiotiques	74
i) Caractéristiques communes des probiotiques	75
ii) Caractéristiques des probiotiques pris par voie orale	76
• Protection des probiotiques contre l'acidité gastrique	77
• Etat de "mise en veille"	77
iii) Les caractéristiques des probiotiques administrés par voie vaginale	78
B) Etude des effets des souches principales	79
1) Lactobacillus crispatus	80
2) Lactobacillus gasseri	81
3) Lactobacillus rhamnosus	82

4) Lactobacillus plantarum	83
5) Lactobacillus casei	83
C) Les différentes indications	84
1) Vaginose bactérienne	84
2) Mycose vaginale	85
3) Cystite	86
6) En cas de sécheresse vaginale :	86
D) Les probiotiques pris par voie orale	87
1) Avantages de la voie orale	87
2) Exemples de spécialités de probiotiques oraux vendus en officine	88
3) Les conseils associés	90
E) Les probiotiques pris par voie vaginale	90
1) Avantages et inconvénients de la voie vaginale	90
2) Exemples de spécialités de probiotiques vaginaux vendus en officine	90
3) Les conseils associés	93
F) Limite des probiotiques	94
G) Le conseil pharmaceutique : exemples de cas de comptoir	96
Bibliographie	100

INDEX DES FIGURES :

- Figure 1: Abondances relatives des espèces/genres bactériens mises en évidence par pyroséquençage dans des microbiotes vaginaux sains, intermédiaires ou pathologiques
- Figure 2 : Différents états du microbiote vaginal
- Figure 3 : Le continuum du microbiote le long de l'appareil reproducteur féminin et sa relation avec les maladies liées à l'utérus
- Figure 4 : Mécanismes impliqués dans les phénomènes d'adhésion
- Figure 5 : Fonctions des biosurfactants produits par certains lactobacilles
- Figure 6 : Fonctions des lactobacilles
- Figure 7: Echelle du pH
- Figure 8: Détails du score de Nugent
- Figure 9 : Variations hormonales durant le cycle d'une femme
- Figure 10: Les variations du microbiote lors de la ménopause
- Figure 11: Les fréquences de résistances aux antibiotiques de quatre souches de lactobacilles
- Figure 12 : Prévalence de la colonisation vaginale de différentes espèces de bactéries et de levures (respectivement chez des femmes sans rapport sexuel récent, avec rapport sexuel récent sans diaphragme/spermicide, et avec rapport sexuel récent avec diaphragme/spermicide)
- Figure 13 : Classement des méthodes contraceptives médicamenteuses par quantité croissante de progestatif
- Figure 14 : Prévalence des Lactobacilles producteurs de H₂O₂ parmi les groupes préservatifs, DIU et méthode du rythme.
- Figure 15 : Différences de composition bactérienne des microbiotes de sujets cancéreux et sains (à gauche, respectivement en rouge et vert)) et des microbiotes avant et après radiothérapie (à droite, respectivement en rouge et bleu.
- Figure 16 : pH du vagin et des différents fluides ou produits susceptibles de modifier celui-ci.
- Figure 17 : Répartition de la vitesse de déplacement des virions du VIH-1 dans des milieux acides ou neutres, représentant un vagin au pH acide ou neutre

- Figure 18 : Eléments devant figurer sur le conditionnement des probiotiques
- Figure 19 : Mécanismes d'action des probiotiques
- Figure 20 : Principales caractéristiques nécessaires à la sélection d'une souche probiotique
- Figure 21 : Schéma représentant la nomenclatures d'un lactobacille
- Figure 22: Réduction du nombre de particules de VHS-2 actives après co-intubation avec trois souches de lactobacilles
- Figure 23 : Appréciation globale de l'évolution de la candidose vulvovaginale récidivante : pourcentage de patientes et de médecins ayant constaté une nette amélioration des symptômes

INDEX DES TABLEAUX :

- Tableau 1: Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée.
- Tableau 2 : Score des morphotypes après une coloration de Gram permettant de calculer le score de Nugent (microscopie à immersion, x100).
- Tableau 3 : Exemples de lubrifiants disponibles sur le marché.
- Tableau 4 : Résumé des principales différences entre un médicament et un complément alimentaire.
- Tableau 5 : Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques, classées par genres et espèces.
- Tableau 6 : Spécialités de probiotiques par voie orale vendus en officine.
- Tableau 7 : Spécialités de probiotiques par voie vaginale vendus en officine.

INDEX DES ABREVIATIONS :

- ADN = Acide Désoxyribonucléique
- APF = Facteur Promoteur de l'Agrégation
- BVAB1 = Bacterial Vaginosis-associated Bacterium = bactérie associée à une vaginose bactérienne
- ARN = Acide Ribonucléique
- *C.* = *Candida*
- CVV = Candidose vulvo-vaginale
- DIU = Dispositif Intra-Utérin
- *Et al.* = *Et alii* : *et collègue*
- *G.* = *Gardenella*
- HbA1c = Hémoglobine glyquée
- HPV = Human Papillomavirus (virus du papillome humain)
- IL = Interleukine
- *L.* = *Lactobacillus*
- MAI = maladie auto-immune
- MICI = Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin
- OR = Odds Ratio
- RR = Risque Relatif
- SGLT2 = Sodium-glucose co-transporteur 2 = Co-transporteur de sodium et de glucose
- VIH = HIV = Virus de l'Immunodéficience Humaine
- VHS = Virus de l'Herpes Simplex
- UFC= Unité Formant Colonie
- Spp = Species (ensemble des espèces)

Introduction

La flore vaginale est un microbiote (une communauté de micro-organismes) essentiellement composé de lactobacilles qui ont un rôle essentiel à la vie de chaque femme, peu importe la période de sa vie. C'est un élément de défense incontournable pour la protéger des agressions. Ce microbiote connaît des variations physiologiques au cours de la vie, et de nombreux facteurs peuvent créer une dysbiose. C'est la raison pour laquelle son bon équilibre est fondamental pour la protection du corps de la femme.

Les agressions survenant dans une vie peuvent-être d'origine endogène, c'est-à-dire qu'elles prennent naissance à l'intérieur de notre corps, ou exogènes, avec alors pour origine des causes iatrogéniques, d'hygiène ou encore pathologiques.

Pour pallier à ces déséquilibres, le recours aux probiotiques peut-être intéressant. Les probiotiques sont des micro-organismes possédant chacun leurs caractéristiques propres.

Ce sont des « bonnes » bactéries, définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant des « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels » ; mais les probiotiques ne sont pas des médicaments, en effet ils ne remplacent pas la flore d'origine, autrement appelée la flore de Döderlein, mais ils viennent en renfort de celle-ci pour permettre de se développer et de faire son travail.

L'objet de cette thèse est d'apporter une aide au pharmacien pour reconnaître les différentes formulations proposées au comptoir de l'officine. Mais le but est également d'aider les professionnels de santé et toute personne intéressée par le sujet à cerner la physiologie d'un microbiote vaginal sain, les différents facteurs de perturbations ainsi que les mécanismes associés. De plus, les probiotiques seuls ne peuvent suffire à la résolution de ces troubles et un travail plus large de conseils hygiéno-diététiques doit être mené.

Dans la thèse, nous aborderons dans un premier temps les connaissances actuelles du microbiote vaginal et l'évolution de celui-ci au cours de la vie d'une femme. Nous verrons d'une part les dysbioses d'origine exogènes et d'autre part celles d'origines endogènes. Puis dans une dernière partie, nous verrons ce que les souches probiotiques peuvent apporter pour le maintien du microbiote vaginal et le bien-être de la femme.

I) Le microbiote vaginal

A) Composition et rôles

1) Composition

i) Présentation de ce microbiote

Le microbiote est le nom moderne de « flore microbienne », « micro » signifiant « petit » et « bios » : la vie. Il représente une communauté de micro-organismes variés, parmi lesquels on peut trouver des bactéries, des champignons, des levures et des virus qui colonisent un milieu spécifique, un organe ou un système et qui participent au maintien de la santé de l'hôte. Le corps humain héberge différents microbiotes tels que le microbiote intestinal, cutané ou respiratoire.

Le microbiote vaginal fut décrit pour la première fois en 1892 par un gynécologue obstétricien, Albert Döderlein (1860-1941), qui donna son nom à cette flore. Il découvrit une bactérie primordiale pour les femmes : le lactobacille, qui constituait la majeure partie de la flore vaginale. Il comprit que ces germes n'étaient pas toxiques, mais au contraire protecteurs. Par la réalisation de prélèvements vaginaux, il put remarquer que, les lactobacilles étaient présents en plus grande quantité parmi la flore des femmes en bonne santé. La microflore vaginale d'une femme en bonne santé est constituée d'une grande variété d'organismes anaérobies et aérobies avec une prédominance des lactobacilles.

ii) Composition qualitative et quantitative de ce microbiote

Une femme possédant un microbiote vaginal sain, non enceinte, hors période de menstruations, se trouvant en période post-puberté et pré-ménopausée possède un microbiote dominé par des lactobacilles d'espèces différentes composant la flore de Doderlein. Chez cette femme, la concentration de lactobacilles est comprise entre 10^5 et 10^8 Unités Formant Colonies (ufc) par gramme de sécrétion vaginale. Cela représente entre 1 et 1 000 bactéries par gramme par champ microscopique, sur un frottis de sécrétions vaginales utilisant la technique de la coloration de Gram. (1) Les espèces principales sont *L. crispatus* (59%), *L. iners* (22%), *L. gasseri* (16%) et *L. jensenii* (3%).(2)

Les lactobacilles sont des bacilles (bactéries en forme de bâtonnets) à Gram positif, non mobiles, non sporulés et anaérobies facultatifs. De toutes les bactéries lactiques, ce sont

les plus acidophiles, car capables de vivre à un pH de 4. Le genre *Lactobacillus* contient plus de 170 espèces qui colonisent les muqueuses chez l'Homme.

Conjointement aux lactobacilles majoritaires, il existe de nombreuses espèces bactériennes issues du microbiote intestinal et oropharyngé de l'homme composant minoritairement le microbiote vaginal. Cependant ces bactéries ne sont pas toujours visibles à la coloration de Gram.

Les bactéries d'origine digestive contenues dans le microbiote vaginal sont minoritaires et sont principalement anaérobies. On y trouve : *Peptostreptococcus spp*, *Streptococcus agalactiae*, *Atopobium vaginae*, *Bacteroides spp*, *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Entercoccus spp*, *Capnocytophaga spp*, *Porphyromonas spp*, *Escherichia coli*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardenerella vaginalis*, *Fusobacterium*.

Plus rarement, le microbiote peut également contenir *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Streptococcus pyogenes* (Groupe A), *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Branhamella catharralis*. On les retrouve seulement chez 0.1% à 2% des femmes (3).

Ces bactéries du microbiote vaginal sont classées en 3 groupes. Le premier groupe contient les espèces majoritaires : les lactobacilles. Le deuxième groupe est composé de la flore issue du microbiote digestif. Quant au dernier, il regroupe les bactéries naturellement présentes dans la sphère oropharyngée. (Tableau 1)(4)).

Groupe	Composition
I Flore dominante (10 ⁸ à 10 ⁹ bact / g)	Cette flore est constituée de bactéries acidophiles, essentiellement des Lactobacillus (flore de Doderlein) reconnaissables facilement au GRAM dans leur morphologie classique : longs bacilles à Gram positif. De nombreuses espèces peuvent être présentes, les plus fréquentes étant : <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. iners</i> . Certaines espèces ont un aspect trompeur à la coloration de Gram (aspect fin ou coccoïde évoquant à tort des corynébactéries ou des streptocoques).
II Flore sous dominante (10 ⁴ bact / g)	Variable d'une femme à une autre, les espèces qui la composent sont très variées : <ul style="list-style-type: none"> - <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Enterococcus</i>, streptocoques non groupables, - entérobactéries (<i>Escherichia coli</i> surtout, mais aussi <i>Proteus</i>, <i>Morganella</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i> et <i>Serratia</i> après antibiothérapies prolongées ou multiples), - <i>Staphylococcus aureus</i> et autres staphylocoques, - bactéries anaérobies (<i>Bacteroides</i>, <i>Prevotella</i>, <i>Fusobacterium</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Peptostreptococcus</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Mobiluncus</i>), - <i>Gardnerella vaginalis</i>, - <i>Atopobium vaginae</i>, - <i>Mycoplasma hominis</i>, <i>Ureaplasma spp</i>, - <i>Candida albicans</i> (levure).
III Flore exceptionnelle (<10 bact / g)	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Haemophilus influenzae</i> et <i>para-influenzae</i>, - <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i>, - <i>Neisseria meningitidis</i>, autres <i>Neisseria</i> et <i>Moraxella</i>.

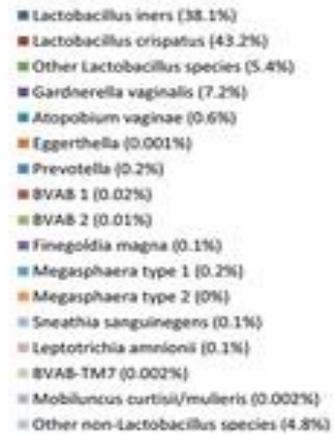
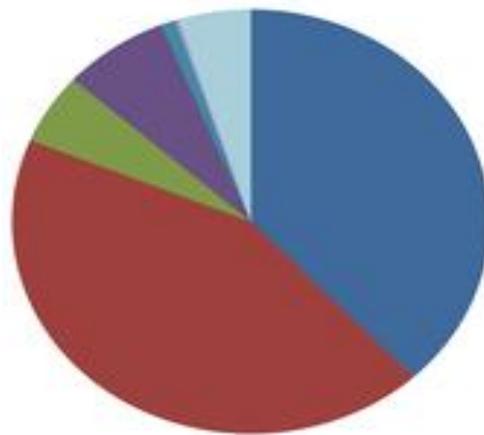
Tableau 1: Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée (4)

L'importance de la concentration des lactobacilles dans la santé vaginale a été mise en évidence par pyroséquençage (technique de séquençage rapide permettant l'analyse de l'ADN). En effet, une analyse réalisée sur 163 femmes permet de déterminer que chez les participantes en bonne santé (n=79), les lactobacilles étaient prédominants avec près de 90% de *L. crispatus* et *L. iners* visible sur le haut de la figure 1, en dessous du titre « controls ».

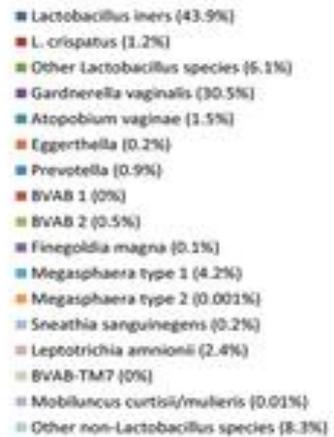
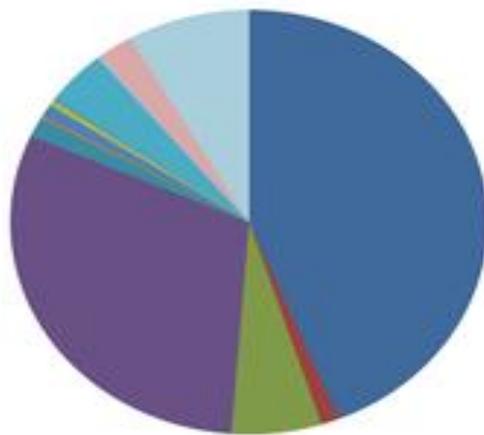
Chez les femmes dont la flore commence à être déséquilibrée (cas intermédiaire, n=11), *Gardnerella vaginalis* et *L. iners* dominant et représentent à eux deux 75% de toutes les séquences.

Enfin, parmi les femmes souffrant de vaginose bactérienne (BV sur la figure 1) c'est-à-dire une inflammation vaginale causée par une multitude de bactéries, liée à un déséquilibre de la flore microbienne au cours duquel les lactobacilles ne sont plus majoritaires), on trouve *G. vaginalis*, *Prevotella*, *Megasphaera type 1*, *L. amnionii*, *L. iners*, *A. vaginae*, BVAB1, BVAB2, *Sneathia sanguinegens* ou encore *Eggerthella*. (Figure 1) (5)

Controls



Intermediate



BV

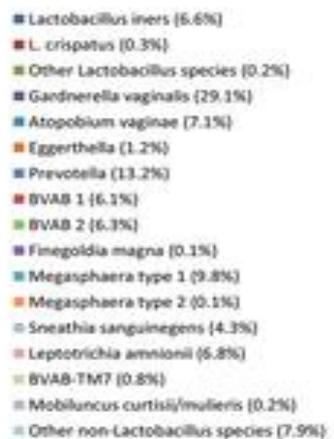
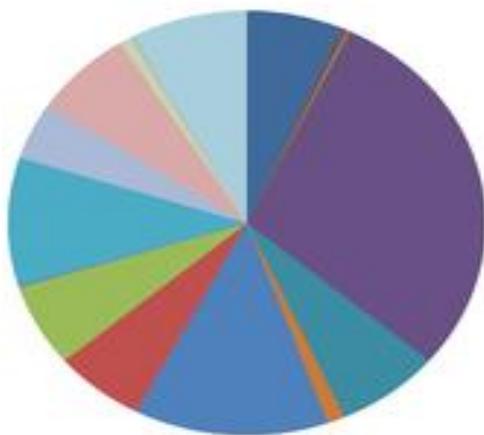


Figure 1: Abondances relatives des espèces/genres bactériens mises en évidence par pyroséquençage dans des microbiotes vaginaux sains, intermédiaires ou pathologiques (6)

Le microbiote vaginal peut ainsi être classé en différents types d'états communautaires (community state types: CST) selon l'état de santé de la femme (figure 2).

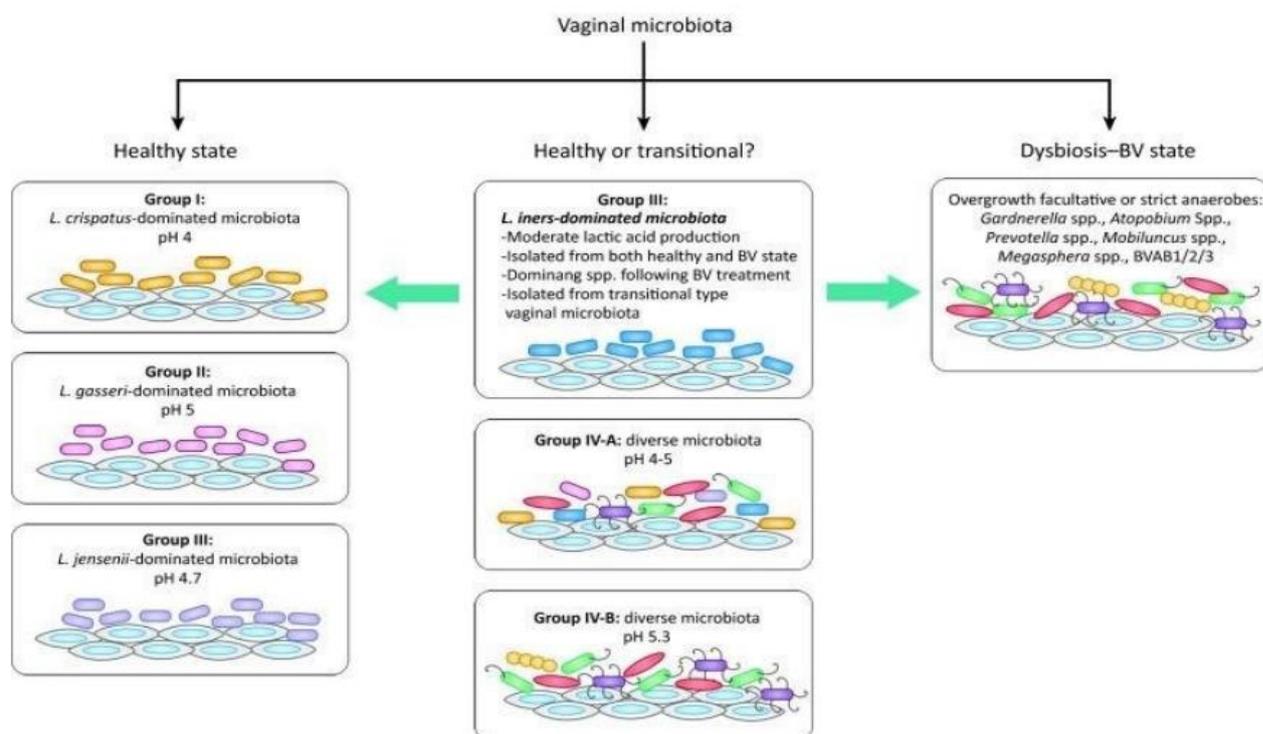


Figure 2 : Différents états du microbiote vaginal (2)

Petrova *et al.* ont décrit trois états du microbiote : sain, déséquilibré et pathologique (avec dans ce cas une vaginose bactérienne). En effet, à gauche de la figure 2, « l'healthy state » représente le microbiote sain, composé principalement par trois espèces de lactobacilles dominantes : *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri* ainsi que *Lactobacillus jensenii*.

Au centre de la figure (microbiote déséquilibré), *L. Iners* est dominant. En effet, cette espèce de lactobacille peut être détectée autant dans des conditions physiologiques que lors de dysbioses vaginales. Cette espèce code pour l'inérollysine, une toxine porogène apparentée à la vaginolysine de *Gardnerella vaginalis*. D'autres bactéries impliquées dans les dysbioses commencent à se propager lors de déséquilibres de la flore.

Pour finir, à droite de la figure, « dysbiosis-BV state » représente le stade de la vaginose bactérienne où les lactobacilles sont en minorité, et dans lequel on retrouve des bactéries telles que *Gardenerella* spp., *Atopobium* spp., *Prevotella* spp., *Mobiluncus* spp., *Megasphaera* spp. ou encore BVABA/2/3.

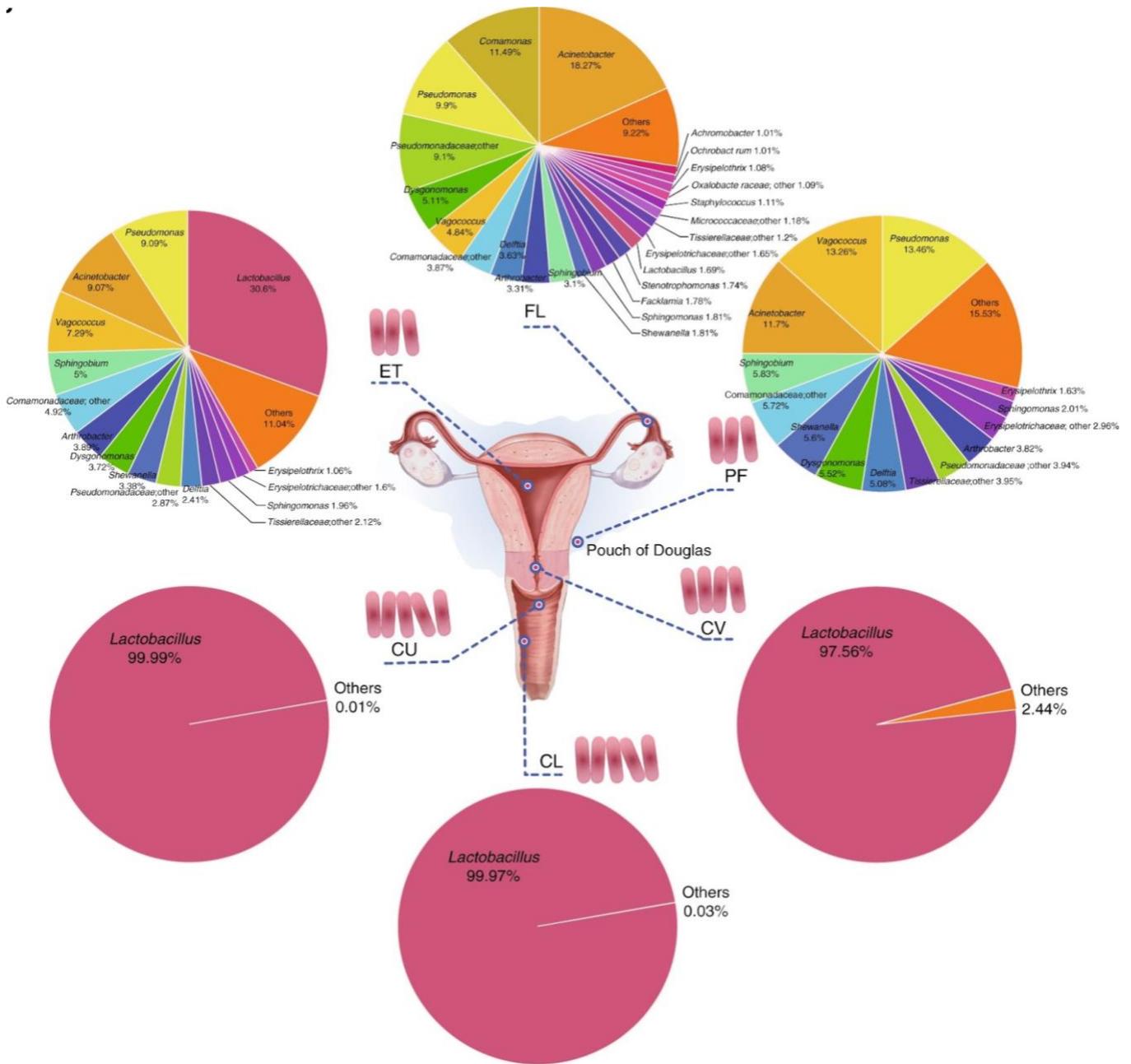


Figure 3 : Le continuum du microbiote le long de l'appareil reproducteur féminin et sa relation avec les maladies liées à l'utérus (7).

Sur cette figure, on peut voir que des échantillons ont été prélevés à six endroits différents sur l'appareil reproducteur :

- CL : lower third of cervix : le tiers inférieur du col de l'utérus
- CU : posterior fornix of cervix : le cul-de-sac postérieur du col de l'utérus
- CV : cervical mucus from the cervical canal : le mucus du canal cervical
- PF : peritoneal fluid from the pouch of Douglas : le liquide péritonéal de la poche de Douglas
- ET : endometrium : l'endomètre
- FL : fallopian tubes : les trompes de fallope.

L'exploration du microbiote de l'appareil génital féminin a permis de découvrir l'importance particulière des lactobacilles dans la partie basse du tractus génital féminin en comparaison avec l'utérus ou les trompes de Fallope. Des prélèvements en six points de l'appareil génital chez des femmes sans pathologie vaginale ont mis en évidence la présence de 99% de lactobacilles à l'entrée du vagin, contre 30% au niveau de l'utérus. Cette prédominance à cet endroit est stratégique car les lactobacilles ont un grand rôle protecteur contre les agents pathogènes pouvant coloniser l'appareil génital féminin. (figure 3) (7) (8). Des précisions sur cet effet protecteur seront développées par la suite.

2) Rôles

i) Rôle d'inhibition de la croissance des pathogènes potentiels

- Production d'acide lactique

Les lactobacilles du microbiote vaginal ont un rôle protecteur car ils sont capables, en transformant le glycogène en acide lactique, d'inhiber la croissance ainsi que la nidation de micro-organismes potentiellement nocifs pour la femme (9). Cet acide lactique possède une action multiple : antivirale, anti microbienne et immunomodulatrice (10).

Les hormones telles que l'oestrogène induisent un dépôt de glycogène dans le vagin. En fonction de la quantité d'hormones et donc de la phase du cycle menstruel, la quantité de ce glycogène vaginal varie. Le glycogène est une source de carbone, et sa fermentation en acide lactique par les lactobacilles ou d'autres micro-organismes a pour conséquence de maintenir un pH vaginal acide (proche de 4). Le glucose produit par hydrolyse du glycogène participe également de façon minoritaire à cette production d'acide lactique.

Les cellules de l'épithélium vaginal peuvent également dégrader le glycogène en acide lactique. Cependant, il existe une nuance entre l'acide lactique synthétisé par les bactéries et celui produit par les cellules humaines. Les cellules épithéliales ne peuvent synthétiser que la forme Lévogyre (forme L) de l'acide lactique, alors que la plupart des lactobacilles produisent les formes Dextrogyre (D) ou L ou DL en mélange.

Les deux formes racémiques existantes d'acide lactique sont :

- Lévogyre (L) : elle a pour propriété d'être virucide, bactéricide et immunomodulatrice mais quand le pH augmente, elle perd ses capacités anti-infectieuses
- Dextrogyre (D) : elle provoque une libération du glycogène des cellules épithéliales

Parmi les lactobacilles producteurs de forme dextrogyre (D), on retrouve *L.crispatus*, *L.gasseri* et *L.jenseni*. En revanche, *L.iners* est un lactobacille dépourvu de l'enzyme nécessaire à sa production (la D-lactate déshydrogénase) et ne peut donc pas produire cette forme d'acide lactique (11).

Or, une étude récente par E R Boskey *et al* a montré que plus de 50 % de l'acide lactique retrouvé dans le milieu vaginal est de la forme isomérique D. Par conséquent, la source principale d'acide lactique est d'origine bactérienne. (12)

Les lactobacilles sont acidotolérants tandis que la plupart des micro-organismes de la flore sous-dominante sont sensibles au pH acide, à l'exception de *Candida albicans* (9). Cette acidification du milieu par ces lactobacilles (via la libération de glycoène des cellules épithéliales) a donc pour conséquence de protéger le milieu vaginal d'un déséquilibre et d'un développement de bactéries pathogènes.

- Production de bactériocines

Lactobacillus gasseri est une espèce particulièrement intéressante car elle présente une activité antimicrobienne. Elle est capable de produire des bactériocines, c'est-à-dire des peptides anti-microbiens dits « antibiotic-like », pouvant tuer d'autres bactéries.

Cette espèce a été définie comme un commensal de la muqueuse vaginale, elle y est indispensable comme le montre une corrélation négative entre sa présence et les vaginoses bactériennes. Elle permet également une immunomodulation des fonctions innées et des systèmes adaptatifs. Cette bactérie est également capable de potentialiser ou contribuer à l'activité des probiotiques. Elle est dominante dans un vagin en bonne santé (13).

Lactobacillus gasseri inhibe grâce à l'acide lactique, au peroxyde d'hydrogène et à ses bactériocines la colonisation par les agents pathogènes. Il existe d'autres antimicrobiens non spécifiques agissant pour augmenter l'action inhibitrice de *Lactobacillus gasseri* par l'action de plusieurs types de stress cellulaire.

Les métabolites antimicrobiens produits par *Lactobacillus gasseri* sont des bactériocines telles que la gasséricine A .

Certaines bactériocines produites par les bactéries Gram-positives ont un large spectre d'activité contre les bactéries Gram-positives et notamment contre certains agents pathogènes. (13) L'activité *in vitro* de la souche *L. gasseri* LA39 a été démontrée contre des pathogènes à Gram positif, comme *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

- Production de peroxyde d'hydrogène

Les lactobacilles fabriquent un antimicrobien non spécifique : le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci va est catalysé à pH acide en présence de fer par les réactions de Fenton. Celles-ci sont donc réalisables dans le vagin. Ces réactions de Fenton contribuent à la production de radicaux hydroxyles très réactifs, induisant l'oxydation des thiols dans les protéines, l'oxydation des lipides membranaires et le clivage de l'ADN (13). Ces mécanismes sont cependant variables car dépendants du système antioxydant de l'hôte. Cette production de peroxyde d'hydrogène est d'ailleurs un critère de sélection pour la fabrication de probiotiques.

Le peroxyde d'hydrogène est également appelé "eau oxygénée". Quand celle-ci est isolée, elle n'est pas dangereuse mais, associée à d'autres substances, elle devient toxique pour certains micro-organismes comme le gonocoque, le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) ou encore le papillomavirus (14). Les effets cumulatifs des antimicrobiens produits par les lactobacilles augmentent en effet sa létalité (13).

De nombreuses études indiquent que le caractère protecteur de certains lactobacilles est dû à leur capacité à produire du H₂O₂ bactéricide. Une étude de cohorte par Hawes *et al.* réalisée sur 182 femmes suivies durant 2 ans a mis en évidence que les femmes dont le microbiote vaginal ne contenait pas de lactobacilles producteurs de H₂O₂ étaient plus à risque de présenter une vaginose bactérienne (p<0.001) (15).

Dans une étude menée par Eschenbach *et al.* sur 95 femmes, 96% des femmes saines présentaient des lactobacilles producteurs de H₂O₂ (LB+) dans leur milieu vaginal, contre seulement 6% des femmes présentant une vaginose bactérienne. (16)

Une autre étude par Nagy *et al.*, menée sur 86 femmes, a obtenu des résultats similaires. En effet, 79% des femmes saines présentaient ce type de lactobacilles tandis que seulement 23% des femmes présentant une vaginose bactérienne possédaient ces lactobacilles. (17)

ii) Limitation de l'expansion du pathogène potentiel

- Phénomène de co-agrégation

Une co-agrégation est définie comme une interaction entre deux micro-organismes de même espèce ou d'espèces différentes. Dans le vagin, celle-ci se réalise entre les lactobacilles afin de le protéger contre les micro-organismes.

Lors de la co-agrégation, les lactobacilles empêchent l'accès des pathogènes aux tissus récepteurs et leur adhésion à l'épithélium (figure 4). Ils inhibent donc l'expansion des souches pathogènes. Le procédé de co-agrégation est spécifique à certaines souches et implique

probablement des protéines de surface et des lipoprotéines. Une étude par S. Boris *et al.* (1998) a ainsi démontré que les espèces *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus jensenii*, une fois isolées du milieu vaginal, étaient capables de s'auto-agrégier au niveau de l'épithélium, inhibant ainsi *Gardnerella vaginalis*, pathogène vaginal bien connu. Ces espèces étaient également capables d'inhiber *in vitro* la croissance de *Candida albicans* et *Escherichia coli*.

Des chercheurs ont isolé chez *L.gasseri* un peptide hydrophile actif à pH acide (pH 3 à 4), appelé Facteur Promoteur de l'Agrégation (APF). Celui-ci serait à l'origine du phénomène de coagréation (9).

Lors de l'agrégation des espèces *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus jensenii*, des granules macroscopiques sont synthétisées. L'agrégation a été stoppée par le traitement des cellules avec la protéinase K pour *Lactobacillus gasseri*, et après incubation d'une lipase pour *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus jensenii*. Ce résultat montre que ce qui favorise l'agrégation est une protéine pour *L. gasseri* et une lipoprotéine pour les deux autres souches. De plus, les récepteurs de *L. acidophilus* sont des glycoprotéines thermosensibles, celles de *L. gasseri* sont des glycoprotéines nécessitant des cations et celles de *L. jensenii* sont des glucides nécessitant des cations. (18).

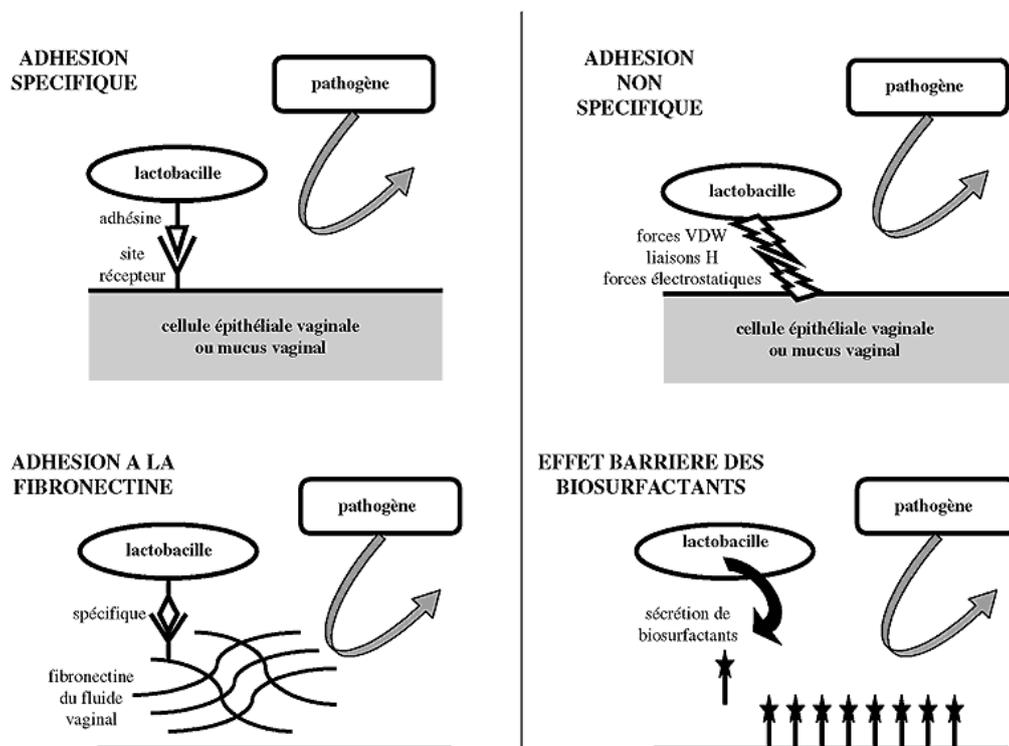


Figure 4 : Mécanismes impliqués dans les phénomènes d'adhésion

- Action anti-virale

Les lactobacilles sont des boucliers contre de nombreuses infections, dont les infections virales. Il a été démontré qu'un microbiote vaginal dominé par les lactobacilles et surtout par *L. gasseri* ou *L. jensenii* peut contribuer à aider les cellules immunitaires à éliminer une infection au Papillomavirus humain (HPV). Cette protection est permise en limitant le déplacement des particules virales et en gardant une homéostasie immunitaire (19). On a vu précédemment que les lactobacilles produisent de l'acide lactique. Celui-ci possède indirectement une action anti-virale par son action anti-inflammatoire au niveau des cellules épithéliales cervico-vaginales, induisant une inhibition de la production de médiateurs pro-inflammatoires associés à l'acquisition du VIH (20).

iii) inhibition de l'adhérence du pathogène potentiel

- Production de biosurfactants

La production de biosurfactants est réalisée par les micro-organismes. Ils forment une barrière protectrice, par les mêmes mécanismes que la salive dans la bouche.

Les lactobacilles produisant des biosurfactants ont montré une activité antimicrobienne en interférant avec la formation de biofilm et l'adhésion des micro-organismes pathogènes aux surfaces des cellules épithéliales (figure 4). Ces biosurfactants, constitués de protéines, glycolipides, glycoprotéines ou glycolipopeptides (21), empêchent l'adhérence des agents pathogènes. Ces agents pathogènes, notamment importés lors de rapports sexuels, adhèrent à la paroi vaginale pour proliférer. La production de biofilms protecteurs est donc primordiale (14).

Les biosurfactants sont des molécules amphiphiles "détergentes" produites par des micro-organismes, possédant de multiples propriétés. Tout d'abord, via une adhésion aux composés organiques des sources carbonées hydrophobes, ils permettent une stimulation de la croissance sur substrats organiques. Ils participent à l'adhésion des bactéries productrices de biosurfactants, et ils permettent la création d'une barrière compétitive vis-à-vis de l'adhésion des pathogènes (figure 5). Les biofilms ont des effets antibiotiques, antifongiques et antiviraux, en particulier la surlactine, découverte chez des espèces de *L. acidophilus* et *L. fermentum*, qui pourrait avoir un effet inhibiteur sur l'adhésion initiale de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* ainsi que la majeure partie des germes donnant des infections urogénitales (9).

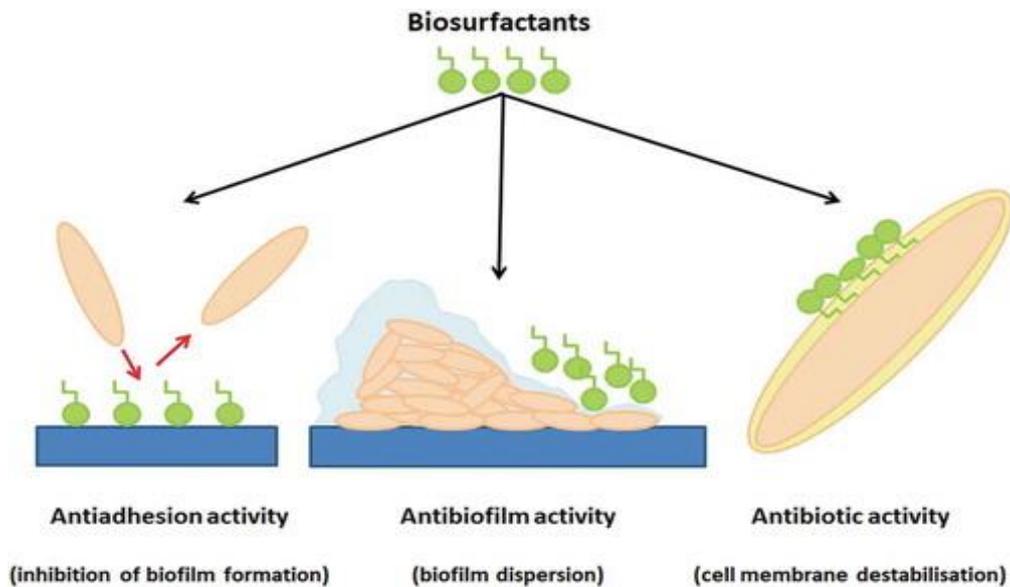


Figure 5 : Fonctions des biosurfactants produits par certains lactobacilles (22).

- Adhérence à la fibronectine humaine

La fibronectine est une protéine capable de moduler l'interaction entre la matrice extracellulaire et les cellules. Cela est possible grâce à la formation d'un complexe d'adhésion avec les intégrines cellulaires. Cette molécule à haut poids moléculaire (450 à 500 kDa), est présente sous 2 formes :

- sous forme fibrillaire dans la matrice extracellulaire, qui recouvre les surfaces des cellules et des muqueuses
- sous forme soluble dans les fluides physiologiques (fluide vaginal).

La fibronectine possède plusieurs rôles: elle permet l'adhésion de la flore en formant une structure de base pour l'attachement des micro-organismes : ceci permet une installation de la flore endogène normale mais aussi l'infection possible par la flore pathogène (figure 5). L'adhésion des lactobacilles à la fibronectine est d'autant plus forte que le pH du milieu diminue jusqu'à pH 4 (conditions vaginales normales) (9).

Les lactobacilles ont donc de multiples rôles permettant la protection du microbiote vaginal (figure 6).

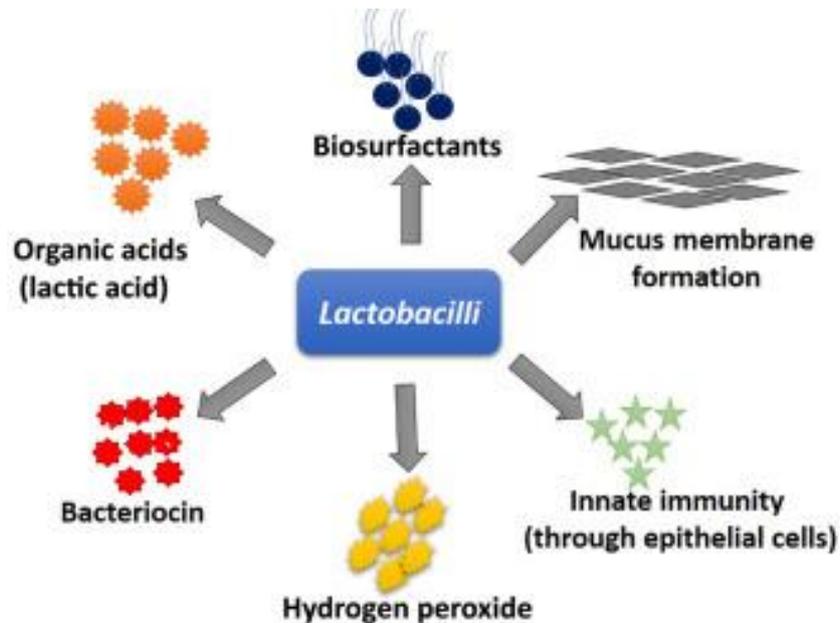


Figure 6: Fonctions des lactobacilles (23)

iv) Le pH vaginal

Les lactobacilles sont les bactéries commensales les plus communes du vagin humain. Ils sont capables de produire de l'acide lactique pour maintenir un pH relativement bas dans le tractus génital féminin. Un pH bas inhibe la croissance des bactéries pathogènes et s'ajoute à tous les procédés cités précédemment pour limiter le développement et la prolifération de micro-organismes et maintenir une santé du vagin. Par conséquent, le pH du vagin est réduit à <4,5 et restreint la croissance de nombreux agents pathogènes potentiels.

Le pH vaginal est un reflet de l'état du vagin. Un pH acide est la conséquence de la grande quantité d'acide lactique, donc d'un microbiote équilibré.

De précédentes études avaient sous-estimé la concentration vaginale en lactate, un métabolite du glucose formé par les tissus du corps lorsque l'apport en oxygène devient trop faible (24). Ces études n'ont pas tenu compte de la teneur en dioxyde de carbone et de la faible concentration d'oxygène dans le vagin. En réévaluant le pH et par conséquent la concentration en acide lactique, on a compris que le vagin est bien plus microbicide que l'on ne le pensait.

Le pH vaginal est un pH acide, normalement compris entre 3.8 et 4.5 (figure 7). Plus précisément:

- un pH voisin de 4 témoigne d'un microbiote vaginal sans infection (sauf pendant la période des menstruations où le pH est augmenté)

- un pH supérieur ou égale à 4.5 indique une flore vaginale déséquilibrée avec une vaginose bactérienne, des vaginites à *Trichomonas* et des vaginites à lactobacilles
- un pH inférieur ou égal à 4 est cependant souvent constaté lors des vaginites à *Candida*, qui résiste très bien à l'acidité (9).



Figure 7: Echelle du pH (25).

v) Le score de Nugent

Le score de Nugent, découvert par RP Nugent et publié en 1991, a permis de remplacer les critères de Spiegel, également connus sous le nom de coloration de Gram des frottis vaginaux. Le système de notation Nugent était auparavant considéré comme l'étalon-or pour le diagnostic de la vaginose bactérienne, et demeure aujourd'hui un test bactériologique fiable et peu coûteux (26).

Le score de Nugent est un test bactériologique peu coûteux. Basé sur une observation microscopique après coloration de Gram, il prend en compte la composition microbiologique du microbiote vaginal et le dénombrement des *Lactobacillus*, de *Gardnerella vaginalis* et des bâtonnets Gram-négatifs incurvés (27). La présence de polynucléaires dans le prélèvement témoigne d'une inflammation, ce qui permet d'orienter le diagnostic.

Le score de Nugent se calcule à partir d'un prélèvement vaginal sur écouvillon puis il faut faire un frottis sur une lame propre. Il y a ensuite une étape de fixation à l'éthanol à 90%. La coloration de la lame est réalisée par la technique de Gram. Il y a une examination de plusieurs champs afin de choisir une zone riche en bactéries et cellules.

Ce score doit être établi sur la moyenne des résultats obtenus sur 10 champs microscopique. Il se présente avec une notation de 0 à 10. Il a été déterminé qu'il était plus précis en n'incluant pas les bactéries cocci à Gram positif dans la méthode de calcul (27).

Trois morphotypes entrent dans l'établissement du score: le morphotype « lactobacille » (bactéries à Gram positif), le morphotype « *Gardnerella* et anaérobies » (bacilles ou coccobacilles à Gram positif et/ou négatif, souvent d'aspect corynéforme et de

petite taille, correspondant à la prolifération polymicrobienne des bactéries), et enfin le morphotype *Mobiluncus* (bacille incurvé à Gram variable dont l'aspect évoque un coup d'angle).

SCORE	MORPHOTYPE <i>LACTOBACILLUS</i>	MORPHOTYPE <i>GARDNERELLA ET BACTEROIDES</i>	MORPHOTYPE <i>MOBILUNCUS</i>
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ ou 2+
2	2+	2+	3+ ou 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

Tableau 2 : Score des morphotypes après une coloration de Gram, permettant de calculer le score de Nugent (microscopie à immersion, x1000)

L'évaluation quantitative de 0 à +4 est effectuée selon les critères suivants :

- 0 : absence de morphotypes par champ.
- 1+ : un morphotype présent par champ.
- 2+ : 1-4 morphotypes présents par champ.
- 3+ : 5-30 morphotypes présents par champ.
- 4+ : plus de trente morphotypes présents par champ.

Il faut additionner les scores des trois morphotypes pour obtenir le score de Nugent.

Un score entre 0 et 3 indique une flore normale composée d'une majorité de lactobacilles, parfois accompagnés de bactéries polymorphes en petite quantité.

Un score entre 4 et 6 correspond à un microbiote intermédiaire: les lactobacilles sont peu abondants et associés à des morphotypes bactériens en petite quantité. La flore vaginale est par conséquent altérée mais on ne parle pas encore de vaginose bactérienne.

Un score de 7 ou plus témoigne d'une vaginose bactérienne. Les *Lactobacillus* sont absents, et des bactéries comme *Gardnerella vaginalis* et des bâtonnets Gram-négatifs incurvés sont présents en nombre important. Les lactobacilles ont alors laissé place à une flore anaérobie polymorphe et abondante (27) (figure 8).

Groupe 1 (score compris entre 0 et 3)	<ul style="list-style-type: none"> • Flore normale, à prédominance de lactobacilles • Parfois associée à d'autres morphotypes bactériens mais présents en petite quantité
Groupe 2 (score compris entre 4 et 6)	<ul style="list-style-type: none"> • Flore intermédiaire, avec des lactobacilles peu abondants et associés à d'autres morphotypes bactériens en petite quantité. • ⇨ Flore vaginale altérée, mais qui n'est pas en faveur d'une vaginose bactérienne
Groupe 3 (score compris entre 7 et 10)	<ul style="list-style-type: none"> • Flore évocatrice d'une vaginose bactérienne: les lactobacilles ont disparu, au profit d'une flore anaérobie abondante et polymorphe.

Figure 8 : Détails du score de Nugent

Il existe également une autre manière de déterminer l'état de la flore vaginale : les critères d'Amsel. Ceux-ci sont déterminés grâce à des critères biocliniques assez simples et faciles à rechercher après une formation sommaire des techniciens. Ils reposent sur une combinaison de critères biologiques et cliniques. Des études ont été faites pour comparer les deux méthodes, sans obtenir de différence significative entre les deux en termes de résultats. Malgré cela, le score de Nugent est préféré aux critères d'Amsel dans de nombreux laboratoires car, étant composé de critères plus objectifs, il présente moins de problèmes de sensibilité et de reproductibilité. (28). Il présente cependant une technicité plus importante au microscope, et a donc été ignoré par de nombreux médecins pendant des années. Aujourd'hui, on considère que les 2 tests s'équivalent en termes de résultats, l'application des scores dépend donc des laboratoires (26).

B) Evolution du microbiote vaginal au cours de la vie d'une femme

1) De la naissance jusqu'à l'enfance

L'acquisition du microbiote du nouveau-né se fait à sa naissance lors du contact avec le microbiote maternel et en particulier le microbiote vaginal. Une étude publiée par M.G Dominguez-Bello *et al.* (Université de New York) dans *Nature Medecine* a montré que les bébés nés par voie basse et ceux nés par césarienne n'ont pas le même microbiote intestinal, le microbiote des bébés nés par césarienne étant plus pauvre en bactéries commensales. Les bébés nés par césarienne auraient un microbiote plus proche du microbiote cutané. (29) La

césarienne nécessitant une désinfection de la peau et l'opération se déroulant dans une salle stérile, l'exposition aux micro-organismes à l'accouchement est plus restreinte (30).

Le microbiote vaginal du nouveau-né est influencé par le taux circulant d'oestrogènes. Pendant la grossesse, un transfert des oestrogènes de la mère vers le fœtus a pour conséquence une accumulation de glycogène dans les cellules de la muqueuse vaginale de la petite fille. Comme vu précédemment, l'oestrogène induit un dépôt de glycogène dans le vagin, permettant ainsi une acidification du pH vaginal.

Le vagin du bébé possède alors une composition bactérienne similaire à celui du vagin de la femme adulte. Les lactobacilles dominent dans leur microbiote vaginal, jusqu'à la métabolisation des oestrogènes maternels (29). Progressivement, le taux d'oestrogène va diminuer, induisant une diminution de la concentration en lactobacilles et donc une diminution d'acide lactique et une augmentation du pH.

Le pH va par conséquent augmenter pour devenir neutre voire alcalin jusqu'à la puberté. Chez la petite fille, des bactéries provenant du microbiote cutané et intestinal colonisent le vagin. Le pH diminue alors, et l'on retrouve des micro-organismes anaérobies comme *Peptostreptococcus* et *Propionibacterium*, et aérobies tels que *Staphylococcus epidermidis* ou *Escherichia coli* (29).

2) A la puberté

Au moment de la puberté, on observe une augmentation de la concentration en oestrogènes. Cette augmentation a pour conséquence une augmentation de production d'acide lactique par les lactobacilles et donc une diminution du pH vaginal (31).

Le pH sera alors proche de 5. Il va diminuer pour arriver à des concentrations qu'on trouve chez la femme adulte. Les menstruations sont la conséquence de ces changements de microbiote, il s'agit d'un bouleversement hormonal. Dans une expérience décrite par ME. Thoma *et al.* (32), des adolescentes (n=49) ont fourni des écouvillons vaginaux auto-collectés chaque semaine. Chez les adolescentes non réglées, le score de Nugent médian était de 8 (très peu de lactobacilles dans le milieu) contre 4.5 (beaucoup de lactobacilles dans le milieu) chez les filles en période post-règles. Ils ont pu également observer que les bâtonnets à Gram + (les lactobacilles) ont augmenté après l'apparition des premières règles. Le microbiote vaginal varie alors selon l'apparition des premiers cycles menstruels, l'adolescence est donc une période de changement important (32).

3) Pendant les menstruations

Durant les menstruations, le pH vaginal peut s'élever jusqu'à 6 du fait d'une baisse d'absorption des oestrogènes au niveau vaginal. Cette augmentation de pH (et par conséquent cette diminution de production d'acide lactique) engendre une augmentation du risque d'apparition d'infections vaginales. Le pathogène le plus fréquemment associé à cette élévation de pH est *Gardnerella vaginalis*, dont les concentrations sont inversement proportionnelles à la concentration des lactobacilles.(33)

A la fin des menstruations, l'augmentation du taux d'oestrogènes (figure 9) provoque une élévation de la production de glycogène, permettant aux lactobacilles d'être à nouveau majoritaires au sein du microbiote vaginal (29).

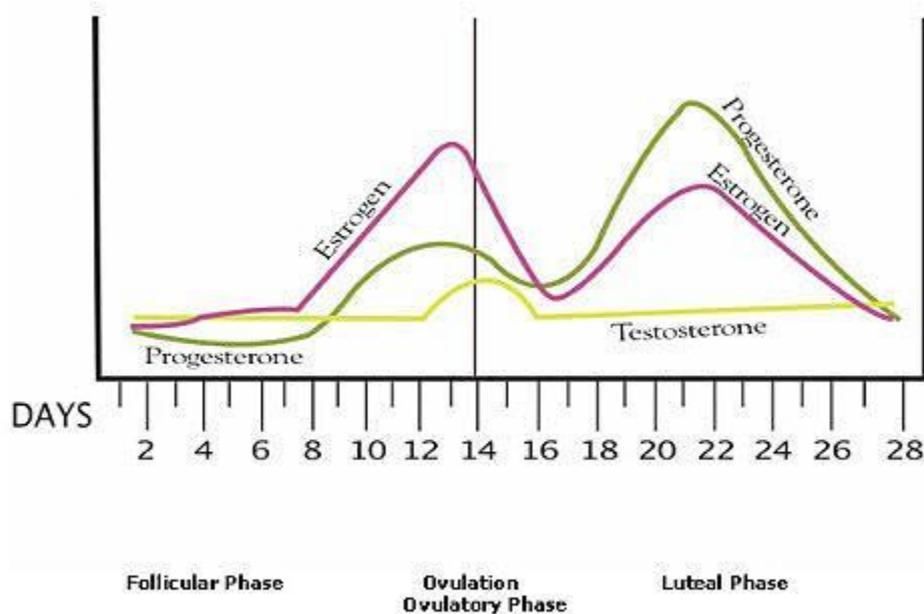


Figure 9 : Variations hormonales durant le cycle d'une femme (34).

4) Chez la femme enceinte

L'importance du microbiote vaginal durant la grossesse est d'autant plus grande qu'il a également pour rôle de protéger le fœtus. Comme vu précédemment (figure 3), la concentration en lactobacilles est moins importante au niveau du col de l'utérus. La grossesse est un bouleversement hormonal chez la femme, et la variation de la quantité d'oestrogènes provoque une fluctuation de la concentration de lactobacilles et de glycogène, utilisé par *Candida albicans* comme substrat de sa croissance. La grossesse peut induire une diminution

voire une disparition des lactobacilles et provoquer un déséquilibre. Le maintien d'une grossesse sans infection sera directement dépendant de la conservation du microbiote vaginal et par conséquent de la concentration d'oestrogènes. (35)

Durant la grossesse, la recherche de bactéries classées comme à haut risque infectieux repose sur l'étude durant le premier trimestre des prélèvements vaginaux et endocervicaux. Parmi ces bactéries, on retrouve souvent *Streptococcus agalactiae* (streptocoque du groupe B, commensal du microbiote vaginal retrouvé chez 2 à 25% des femmes enceintes), responsable de vaginites et vaginoses pouvant représenter une menace d'accouchement prématuré. (36) (37) *S.agalactiae* est responsable de 10% des menaces d'accouchements prématurés et peut provoquer des méningites néonatales (38).

5) A la ménopause

La ménopause intervient généralement entre 45 et 55 ans. Elle provoque des changements physiologiques du microbiote vaginal et de son épithélium, et cause un syndrome d'atrophie vulvovaginal (39). Durant la ménopause, le pH se situe autour de 7 (pH neutre) du fait d'une diminution des lactobacilles, elle-même provoquée par la baisse de la sécrétion d'oestrogènes. La diminution du niveau de glycogène induite aboutit à une atrophie et à une sécheresse vaginale, ainsi qu'à une altération de la qualité de vie, notamment sexuelle, de la femme (figure 10). L'hormonothérapie substitutive a pour but de résoudre les affections symptomatiques et permet une recolonisation des lactobacilles. Les probiotiques ont également un rôle important chez la femme ménopausée, ce que nous verrons plus tard dans la thèse.

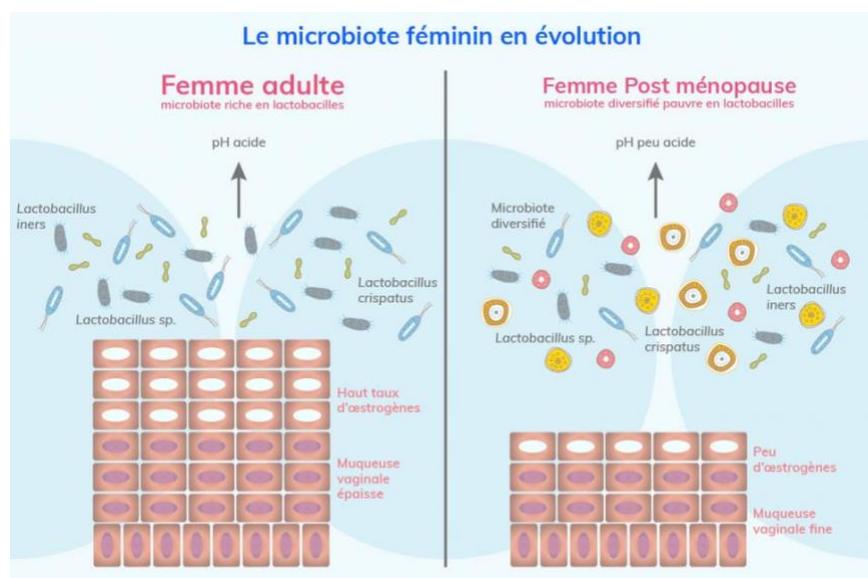


Figure 10: Les variations du microbiote lors de la ménopause (40)

II) Les dysbioses d'origines exogènes

A) Les médicaments et dispositifs médicaux

1) Les antibiotiques

Les traitements par antibiotiques ont plusieurs conséquences néfastes pour le microbiote vaginal et notamment pour les lactobacilles. Ceux-ci sont sensibles à de nombreux antibiotiques. Alors que les traitements par métronidazole, lévofloxacine ou Bactrim (triméthoprime/sulfaméthoxazole) n'affectent pas le nombre de lactobacilles dans le vagin, les pénicillines, céphalosporines et glycopeptides (vancomycine) peuvent provoquer une diminution de la quantité de lactobacilles dans le microbiote vaginal. Une sélectivité des lactobacilles peut alors être induite par une thérapie antibiotique. La clindamycine peut ainsi induire une accumulation sélective dans le vagin de *L.iners* et *L. gasseri*, plus fréquemment résistants à cet antibiotique (figure 11), au détriment de *L.crispatus* (41).

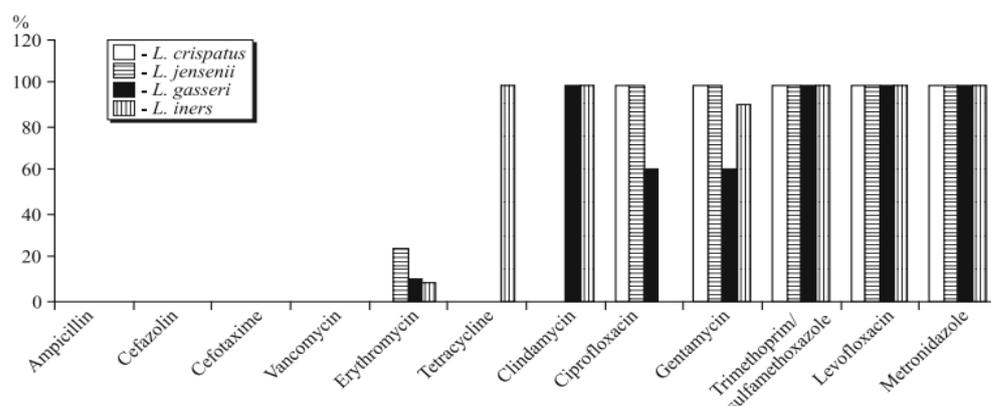


Figure 11: Les fréquences de résistances aux antibiotiques de quatre souches de lactobacilles.

(41)

Les tétracyclines, par leur large spectre d'action, sont également néfastes pour le microbiote vaginal. Dans une étude par Oriol *et al.*, la prévalence des portages vaginaux de *Candida albicans* passait de 13% à environ 30% après 2 à 3 semaines de traitement par tétracyclines, y compris à de faibles dosages (42).

Au contraire, le métronidazole, souvent utilisé dans le traitement des vaginoses bactériennes, semble capable d'exercer une pression de sélection en faveur des lactobacilles (43).

De plus, les traitements antibiotiques sont sources d'apparition de résistances chez les lactobacilles du microbiote vaginal. De nombreuses résistances à des antibiotiques tels que la tétracycline ou le chloramphénicol ont pu être observées et mises en évidence par PCR chez des souches de *L.rhamnosus*.(44) En elles-mêmes, ces résistances sont peu dangereuses du fait du faible caractère opportuniste des lactobacilles. Elles sont cependant problématiques du fait des risques de transmission croisée des résistances à d'autres bactéries pathogènes ou opportunistes, conduisant à des échecs thérapeutiques.

Ces résultats peuvent nous informer sur les antibiotiques avec un fort risque de destruction des lactobacilles. Rappelons qu'il est nécessaire de continuer la prise d'antibiotiques jusqu'à la fin prévue du traitement, au risque de créer des résistances bactériennes, et ceci même si les symptômes disparaissent. La connaissance de cet effet néfaste pour le microbiote ne doit pas provoquer un arrêt de l'antibiotique, mais plutôt orienter vers des traitements complémentaires comme les probiotiques. Nous aborderons ce sujet ultérieurement.

2) Les corticoïdes

Les corticoïdes, anti-inflammatoires fréquemment utilisés, sont des médicaments bien connus pour leur effet immunosuppresseur, et plus particulièrement lorsqu'ils sont utilisés par voie systémique. Il est donc raisonnable de penser que ces traitements puissent augmenter le risque d'infections vaginales.

Une étude de 2018 portant sur 48 femmes chez lesquelles une candidose vaginale a été diagnostiquée (dont 41 traitées par corticoïdes depuis plus de 6 mois) montre en effet un plus grand risque de récurrence chez les femmes traitées par corticoïdes (65.9% contre 40.4%, $p=0.015$). De plus, ces femmes s'avéraient être plus souvent infectées par des *Candida* autres que *C.albicans* (48% contre 20%). Cela se traduit par une plus grande résistance à certains traitements antifongiques communs tels que le kétoconazole ($p=0.017$) ou le clotrimazole (Mycohydralin) ($p=0.003$) chez ces femmes traitées par corticoïdes (45).

Une autre étude expliquerait cette diminution de la capacité à se défendre face aux différentes espèces de *Candida* par la diminution de TNF alpha provoquée par les corticoïdes (46). Celui-ci est un agent pro-inflammatoire notamment responsable de l'activation des monocytes, qui jouent un rôle dans la réponse à l'infection par *Candida* (47).

3) Les contraceptifs oraux

Les pilules contraceptives sont des médicaments prescrits afin de prévenir les grossesses en bloquant l'ovulation.

Il existe 3 types de pilules:

- La pilule oestroprogestative, qui associe deux hormones : l'oestrogène et le progestatif. Elle peut être monophasique (le dosage d'hormone est donc fixe tout le long de la plaquette), biphasique ou triphasique (dans ces pilules le dosage d'hormones varie dans la plaquette afin de reproduire le cycle menstruel de la femme). De plus, elle peut être normodosée ou minidosée.
- La pilule composée uniquement du progestatif : elle est utilisée en cas de contre-indication avec les pilules oestroprogestatives.
- La pilule avec de l'oestrogène seul : elle est plus rarement utilisée.

Comme vu précédemment dans la thèse, l'oestrogène favorise la production de glycogène, dont *Candida albicans* est un grand consommateur.

Concernant les vaginoses bactériennes, une étude évaluant l'influence de différentes méthodes contraceptives sur le microbiote vaginal a été conduite chez 108 femmes. Des prélèvements vaginaux étaient réalisés avant l'instauration de la contraception et 3 mois plus tard.

Les méthodes contraceptives testées étaient la contraception orale, le dispositif intra-utérin, le préservatif, la méthode rythmique (méthode naturelle basée sur la connaissance du cycle menstruel) et la double protection contraception+préservatif.

La méthodologie Balance of Vaginal Content (BAVACO) a permis de classer 5 statuts :

- 1 : microbiote normal
- 2 : microbiote normal mais réaction inflammatoire vaginale
- 3 : microbiote intermédiaire
- 4 : vaginose bactérienne
- 5 : vaginite microbienne non spécifique

Dans le groupe pilule contraceptive, 2 des 20 femmes du statut 1 ont vu leur statut se détériorer tandis que 9 des 49 femmes d'un statut 2 ou supérieur sont revenues au statut 1. Ces changements étaient significativement associés à un retour au statut 1 ($p=0.04$).

D'après les auteurs, l'apport exogène d'hormones diminuerait le risque de vaginoses bactériennes par une régulation des mécanismes hormonaux. D'un point de vue

physiologique, les oestrogènes induiraient une production des cellules de la couche de surface de l'épithélium vaginal, tandis que les progestatifs stimuleraient la production de la couche intermédiaire. Cette surproduction aboutirait ainsi à une augmentation de la génération de glycogène, qui nourrit les lactobacilles garants d'un microbiote vaginal normal. (48).

En revanche, il semblerait que l'utilisation de la pilule soit associée à une élévation du risque de certaines infections. Une étude prospective réalisée sur 948 femmes kényanes montre une élévation du risque d'infection par *Chlamydia trachomatis* (risque relatif RR = 1.8, p=0.03) et de candidose vaginale (RR = 1.5, p=0.002) (49). Par ailleurs, la diminution observée du risque de vaginose bactérienne (RR = 0.7) est cohérente avec les résultats de l'étude précédente.

Chlamydia trachomatis étant une infection sexuellement transmissible, l'utilisation du préservatif semble d'autant plus nécessaire lors de la prise de pilule. Or, l'utilisation systématique du préservatif concerne moins ces femmes (58% contre 66%, p=0.06), probablement car celui-ci est alors moins utilisé en tant que moyen de prévenir le risque de grossesse.

Une autre étude montre une élévation de 60% du risque de vaginite à *Candida* chez les femmes sous pilule contraceptive, indépendamment d'autres facteurs de risques (50).

Certaines pilules, appelées microprogestatives, ne contiennent pas d'oestrogènes. Elles sont souvent prescrites à la place des pilules oestroprogestatives chez les femmes présentant des antécédents ou des facteurs de risques de maladies cardiovasculaires ou métaboliques. Cependant, l'apport de progestatifs sans l'apport d'oestrogènes peut provoquer un déséquilibre vaginal: le manque de glycogène, normalement apporté par les oestrogènes, peut notamment être responsable d'une sécheresse vaginale. Ces pilules pourraient ainsi provoquer un risque accru de vaginoses bactériennes.

4) Le progestatif sous cutané

Un autre moyen de contraception est l'implant progestatif sous-cutané. Mis en place par un médecin dans la partie inférieure du bras, il peut rester jusqu'à 3 ans en place. Il a pour avantage d'être utilisable par toutes les femmes (y compris les femmes fumeuses chez lesquelles la pilule est contre-indiquée) et de ne pas augmenter le risque d'accident thrombo-embolique car il ne contient pas d'oestrogènes.

Une étude par *Topozada et al.* a comparé la prévalence de *Candida albicans* avant et durant l'utilisation d'un implant sous-cutané au levonorgestrel. Parmi 50 femmes, *Candida*

albicans a été isolée dans 6% (n=3) des cultures avant le début du traitement, contre 12% (n=6) après 12 mois. Cette élévation est non significative, et reste faible en comparaison de l'utilisation de la pilule contraceptive combinée éthynylestradiol/norgestrel (44% après 12 mois). L'explication fournie par les auteurs est que l'implant libère une plus faible quantité de progestatifs (de 68 µg/j à l'implantation à 40 µg/j après 1 an, soit 1/5 de la dose des pilules traditionnelles). Cette faible dose de progestatif affecte probablement beaucoup moins la quantité de glycogène dans la muqueuse vaginale, et donc la production d'acide lactique (favorisant la prolifération de *Candida albicans*) par les lactobacilles (51).

5) Les dispositifs intra utérins (DIU)

Les dispositifs intra-utérins (ou stérilets) sont des dispositifs contraceptifs insérés dans la cavité de l'utérus par un médecin ou une sage-femme. Selon Santé Publique France, leur usage est en augmentation dans la population française: de 18.7% des femmes en 2010, il est passé à 25.6% en 2016 (dont 34.7% des 30-44 ans) (52).

Il en existe deux types:

- Le DIU au cuivre, qui possède un effet spermicide et bloque par ailleurs la nidation de l'ovule en provoquant une inflammation de l'utérus.
- Le DIU hormonal, qui contient un progestatif: le lévonorgestrel. Son mécanisme d'action est identique à celui des pilules microprogestatives.

Il semblerait que l'utilisation du DIU hormonal soit associée à un risque accru de vaginose bactérienne. En effet, une étude de 2000 par Calzolari *et al.* a mis en évidence que, parmi 1314 femmes utilisant différentes méthodes contraceptives, les femmes utilisatrices d'un DIU avaient une probabilité significativement plus élevée de souffrir d'une vaginose bactérienne que les autres (p=0.0001). (53)

6) L'anneau vaginal

L'anneau vaginal, NUVARING, est un anneau contenant de l'éthinylestradiol et de l'étonogestrel. Ce petit anneau souple mesure 54 mm de diamètre externe et possède une action contraceptive. Une fois inséré par la femme dans le vagin, il diffuse une quantité constante d'oestrogènes dans le sang grâce à l'absorption des hormones par la muqueuse vaginale. Il est laissé en place trois semaines dans le vagin puis est retiré une semaine afin de déclencher les règles. Quand cette semaine de règle est terminée, la femme place un nouvel anneau pour trois nouvelles semaines.(54)

Les connaissances de l'influence de l'anneau contraceptif sur le microbiote vaginal sont très faibles. Cependant, les études réalisées concernant l'incidence des infections vaginales et le changement du microbiote vaginal avec l'utilisation de l'anneau semblent pour le moment rassurantes.

Les essais réalisés sur un anneau contenant du lévonorgestrel et de l'estradiol (anneau utilisable pendant 6 mois) et sur un anneau contenant de l'éthinylestradiol et de l'étonogestrel (anneau utilisable pour une durée de 21; 28; 42 ou 56 jours) ont prouvé une bonne sécurité du microbiote vaginal. (3)

Sur un échantillon de 120 femmes, la réalisation de prélèvements avant la pose et après plusieurs mois d'utilisation n'a pas mis en évidence d'élévation du risque d'infection vaginale ou de modification du microbiote vaginal. Sur un an d'utilisation, 3,3 % des sujets ont reçu un diagnostic clinique de vaginose bactérienne, 15,0 % de candidose vulvovaginale et 0,8 % de trichomonase. Néanmoins, le taux de détection de ces infections n'a pas changé de manière significative entre le prélèvement réalisé au début de l'étude et celui réalisé après un an d'utilisation. De surcroît, le score de Nugent est resté stable chez les femmes utilisant l'anneau vaginal contraceptif, et les lactobacilles producteurs d'H₂O₂ ont dominé la flore vaginale tout au long de l'étude. Par ailleurs, aucun changement significatif dans la fréquence ou les concentrations d'autres agents pathogènes n'a semblé émerger. (55)

Une autre étude portant sur l'influence des anneaux sur le microbiote vaginal a montré que certaines femmes pouvaient avoir, lors de l'utilisation de l'anneau, une augmentation de l'humidité vaginale (63% des femmes rapportaient cet effet indésirable). Cependant cette étude semble montrer que la méthode de contraception est bien tolérée par les femmes (56). Durant cette étude, la concentration de *Lactobacillus* produisant de l'H₂O₂ (péroxyde d'hydrogène) était significativement plus élevée chez ces femmes: une multiplication de la concentration de ces *Lactobacillus* par 2,7 a été observée en comparaison aux femmes qui utilisaient un contraceptif oral. Il a été émis l'hypothèse que l'augmentation de l'œstrogène pourrait faciliter la production d'acide lactique en augmentant les taux de glycogène disponible dans les cellules épithéliales, inhibant ainsi les organismes associés à la vaginose. (56)

En outre, les femmes utilisant l'anneau vaginal avaient une diminution de jours de saignement total par rapport aux autres femmes. Pour les femmes utilisant l'anneau, la moyenne était de 0,2 jours contre 1,4 jours de saignements pour les utilisatrices de pilules contraceptives (56)

L'anneau vaginal n'a donc pas d'impacts négatifs sur le microbiote vaginal pouvant entraîner l'augmentation du risque d'infections.(14)

7) Le diaphragme et les spermicides

Une étude faite par Thomas M. Hooton *et al.* incluant 40 femmes sur une durée de 28 semaines a permis de déterminer l'influence sur le microbiote vaginal d'un rapport sexuel récent (3 jours avant le prélèvement) associé ou non à l'utilisation d'un diaphragme avec spermicide.

Les prélèvements vaginaux ont été mis en culture pour en étudier la composition en bactéries et en levures. Parmi les participantes à l'étude, certaines n'avaient pas eu de rapport sexuel dans les 3 derniers jours (n=414), d'autres avaient eu un rapport sexuel sans (n=372) ou avec diaphragme et spermicides (n=192).

Comme représenté dans la figure 12, l'utilisation d'un diaphragme et de spermicides altère le microbiote vaginal en diminuant la prévalence de la colonisation des lactobacilles (présents chez 68% des femmes contre 82 et 87% dans les autres groupes, $p < 0.0001$), et en augmentant la prévalence de la colonisation des uropathogènes (passant de 2-4% à 20%, $p < 0.005$), d'*E.coli* (de 13-18% à 59%) et des espèces de *Candida* (de 4-7% à 40%, $p < 0.0001$).

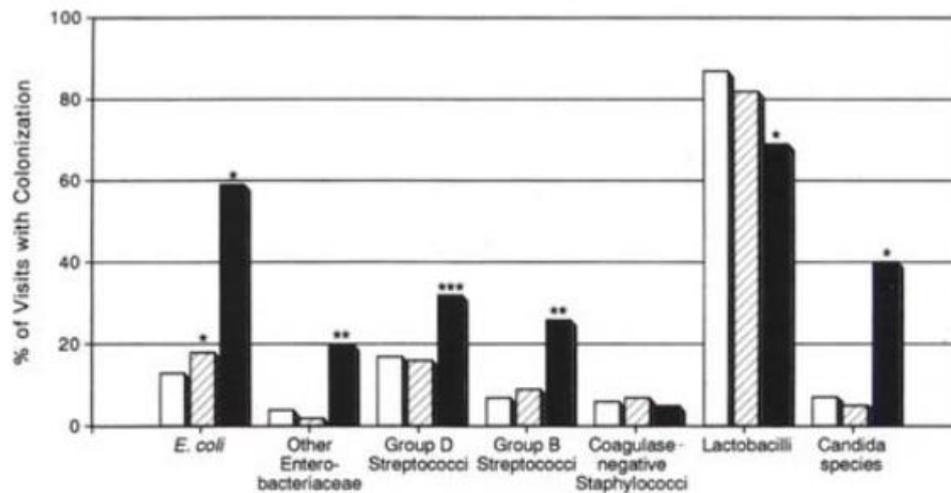


Figure 12 : Prévalence de la colonisation vaginale de différentes espèces de bactéries et de levures, respectivement chez des femmes sans rapport sexuel dans les 3 jours (en blanc), avec rapport sexuel à J-3 sans diaphragme/ spermicide (en hachuré), et avec un rapport sexuel à J-3 avec un diaphragme (en noir). (57)

8) Récapitulatif des méthodes contraceptives médicamenteuses

Récapitulatif: voici une liste de différentes méthodes contraceptives médicamenteuses, classées par concentration croissante de progestérone: DIU au cuivre, DIU aux hormones,

implants, anneau vaginal, patch, pilule microprogestative, pilule oestroprogestative, Acétate de médroxyprogestérone. (figure 13).

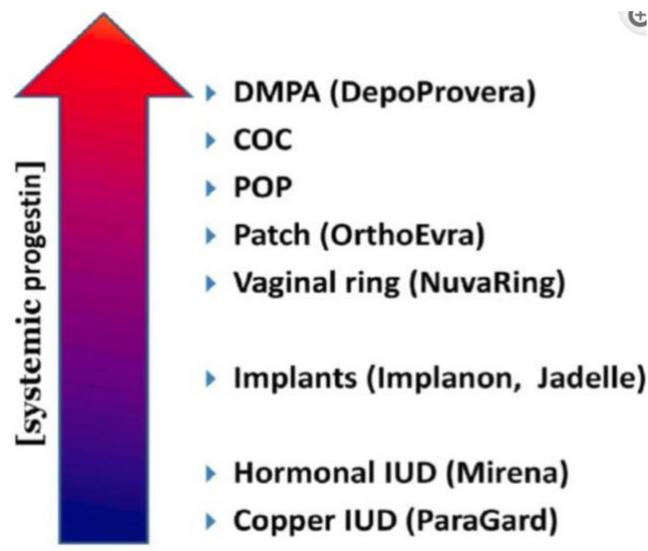


Figure 13 : Classement des méthodes contraceptives médicamenteuses par quantité croissante de progestatif.(58)

Sur la figure 13 :

Copper IUD : Cooper intra uterine dispositif : Stérilet au cuivre ; Hormonal IUD : Hormonal intra uterine dispositif : Stérilet aux hormones ; Implants : implant sous-cutané ; Vaginal ring : anneau vaginal ; Patch : patch cutané ; POP : Progestin Only Pill : Pilule microprogestative ; COC : Combined Oral Contraceptives : Contraceptifs oraux combinés (pilule oestroprogestative) ; DMPA : Depot MedroxyProgesterone acetate : Acétate de médroxyprogestérone (progestatif injectable, non abordé dans la thèse).

9) Le préservatif masculin

Le préservatif est une méthode de contraception pratique, efficace et réversible. Il s'agit de surcroît du seul moyen de contraception permettant d'empêcher la transmission d'IST (Infections Sexuellement Transmissibles).

Une étude chinoise réalisée par Liyan Ma *et al.* (2013) a voulu comparer l'impact de l'utilisation régulière du préservatif et d'autres méthodes de contraception hormonale sur le microbiote vaginal, dont *Lactobacillus crispatus*. L'étude fut réalisée sur 164 femmes en bonne santé et âgées de 18 à 45 ans. Des prélèvements vaginaux ont été réalisés pendant une visite médicale post menstruelle (à J21 et J22 du cycle) afin de déterminer le score de Nugent et

réaliser la PCR et la culture quantitative des lactobacilles vaginaux. Une comparaison de la prévalence, du nombre de colonies et de l'expression génique de l'ARN 16S des souches de lactobacilles a ainsi été réalisée. La comparaison des résultats des groupes préservatifs (n=72) et DIU (n=57) nous donne ces résultats:

- un score de Nugent de 0-3 dans 93.1% des cas dans le groupe préservatif, contre 75.4% dans un groupe DIU ($p=0.005\%$). Pour rappel, un score de Nugent élevé est signe de vaginose bactérienne.
- une prévalence de lactobacilles producteurs de H₂O₂ significativement plus élevée dans le groupe préservatif que dans le groupe DIU (82.3% contre 68.2%, $p=0.016\%$) (figure 14).
- un nombre de colonies de lactobacilles producteurs de H₂O₂ significativement plus élevé dans le groupe préservatif que dans le groupe DIU ($\log_{10} = 7.81 \pm 0.14$ contre 6.54 ± 0.14 , $p = 0.001$).
- une expression du gène ARN 16S de *Lactobacillus crispatus* significativement plus élevée dans le groupe préservatif ($\log_{10} = 8.09 \pm 0.16$ contre 6.03 ± 0.18 , $p = 0.001$). La recherche par PCR en temps réel de l'ARNr 16S (spécifique des bactéries) permet d'identifier des souches particulières de lactobacilles. La présence de *Lactobacillus crispatus* est un signe majeur d'une flore vaginale normale. Il s'agit d'une souche de lactobacilles particulièrement productrice de H₂O₂, inhibant par ailleurs d'autres pathogènes vaginaux potentiels de manière compétitive. Il joue donc un rôle important dans la prévention des infections. Dans cette étude, l'âge n'était pas un facteur de variation de l'expression de l'ARN 16S entre les groupes. (59)

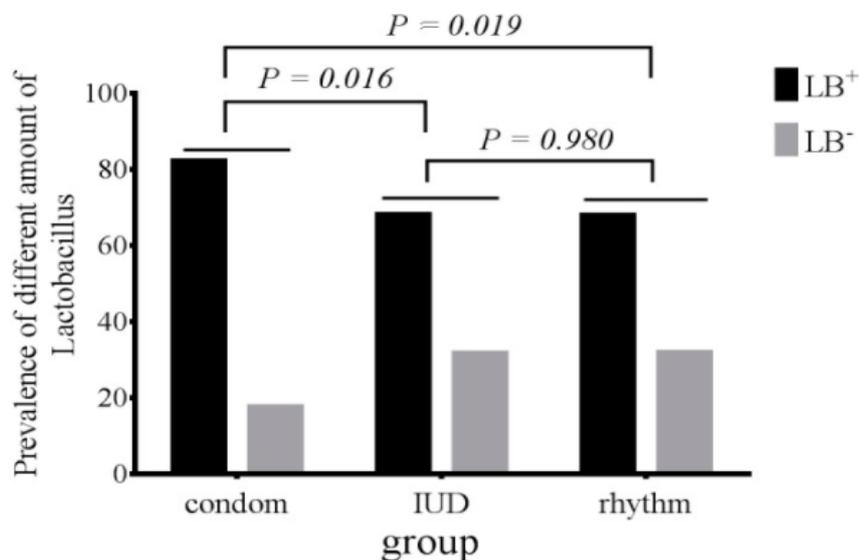


Figure 14 : Prévalence des Lactobacilles producteurs de H₂O₂ parmi les groupes préservatifs, DIU et méthode du rythme (59)

Cette étude a prouvé que l'utilisation du préservatif joue un rôle positif dans la protection du microbiote vaginal en promouvant la colonisation par *L. crispatus*. Les auteurs de l'étude appuient également que l'usage approprié du préservatif prévient la transmission de maladies sexuellement transmissibles telles que le VIH et diminue le risque de bactérioses vaginales.

10) La radiothérapie

Les cancers gynécologiques (de l'ovaire, du col de l'utérus...) sont toujours d'une haute prévalence en France et dans le monde. En France, près de 3000 femmes développent chaque année un cancer du col de l'utérus. Les perturbations du microbiote vaginal chez les femmes traitées par radiothérapie sont encore peu étudiées, du fait des difficultés à recruter des patientes et à recueillir des échantillons appropriés. Les thérapies anticancéreuses semblent néanmoins avoir un impact majeur sur le pH vaginal et la colonisation par les lactobacilles (60).

L'équipe de Tsementzi *et al.* a analysé le microbiote vaginal de femmes post-ménopausées atteintes d'un cancer du col de l'utérus ou de l'endomètre, avant (n=65) et 1 à 2 mois après (n=25) la radiothérapie, en comparaison à un groupe de femmes contrôles (n=67). La composition et la diversité des microbiotes vaginaux des 3 groupes a été étudiée en séquençant par PCR une région du gène de l'ARN 16s, spécifique des bactéries. Comme détaillé dans la figure 15, il a été observé une abondance plus importante de lactobacilles et de bifidobactéries dans le groupe témoin, tandis que les groupes de patientes cancéreuses avant et après radiothérapie étaient enrichis de 16 groupes phylogénétiques (groupes d'espèces proches génétiquement) associés à des vaginoses bactériennes et à une inflammation (*Sneathia*, *Prevotella*, *Fusobacterium*...). Cette diversité bactérienne était encore significativement plus marquée dans le groupe post-radiothérapie. Celui-ci était spécifiquement associé à des espèces liées aux dysbioses vaginales telles que la famille des *Lachnospiraceae*. Outre le cancer et la radiothérapie, l'âge et le pH vaginal étaient identifiés comme des paramètres modifiant significativement la composition bactérienne du microbiote vaginal. Les auteurs signalent toutefois que ces facteurs jouent un rôle finalement modeste, les différences entre sujets étant significativement plus importantes que les différences entre groupes. Selon eux, les perturbations du microbiote vaginal par la radiothérapie, associées à une diminution de la quantité des lactobacilles, sont probablement le résultat de symptômes post-traitement tels que l'atrophie vulvo-vaginale. Selon les auteurs de cette étude, des essais de traitements tels que les probiotiques ou la greffe de microbiote vaginal devraient être réalisés chez les patientes atteintes par ces cancers (61).

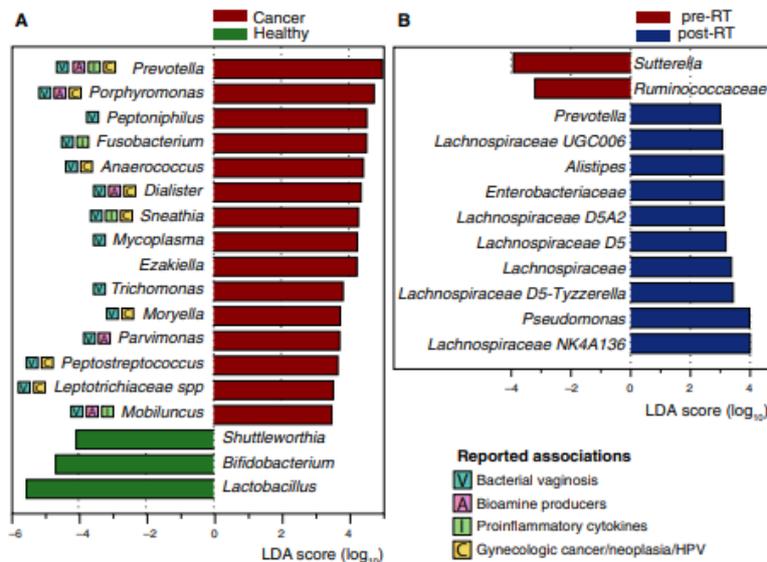


Figure 15: Différences de composition bactérienne des microbiotes de sujets cancéreux et sains (à gauche, respectivement en rouge et vert) et des microbiotes avant et après radiothérapie (à droite, respectivement en rouge et bleu) (61)

11) Nouvelle classe d'antidiabétiques oraux : les inhibiteurs du SGLT2

Le diabète de type 2 peut être traité par un inhibiteur du cotransporteur sodium-glucose 2 (SGLT2) qui a montré une efficacité dans le traitement du diabète et de l'insuffisance cardiaque avec une action protectrice au niveau rénal. Parmi ces médicaments, on retrouve actuellement la dapagliflozine (Forxiga®, présent également dans Xigduo®) et l'empagliflozine (Jardiance® et Synjardy®).

Cette nouvelle classe d'anti-hyperglycémiant provoque une augmentation de l'excrétion de glucose par voie urinaire. Cette glycosurie est associée à un risque accru d'une colonisation de *Candida* qui, par conséquent, augmente la fréquence des infections mycosiques.

L'équipe de Nyirjesy *et al.* a déterminé que les femmes traitées par un inhibiteur du SGLT2 présentaient plus fréquemment une candidose vulvo-vaginale par rapport aux patientes dont le traitement ne contenait pas d'inhibiteur du SGLT2 (31% contre 14%, OR=2.8) (62).

B) Mode de vie

1) L'hygiène intime

L'hygiène intime est indispensable et permet une bonne santé de l'appareil génital féminin. Cependant, les fausses idées concernant celle-ci foisonnent, et conduisent à des conséquences néfastes pour l'équilibre du microbiote vaginal.

Une étude réalisée en 2014 par Li *et al.* sur des femmes de 18 à 49 ans a démontré que certains comportements d'hygiène étaient des facteurs de risque de déséquilibre du microbiote vaginal (63). Cette étude fut réalisée avec un questionnaire standardisé qui incluait les caractéristiques sociodémographiques, des informations sur le mariage, la procréation, la vie sexuelle, la vie personnelle, les comportements hygiéniques et les infections de l'appareil génital féminin. Ce questionnaire fut suivi d'un examen gynécologique. Parmi toutes les femmes, la prévalence de la vaginose bactérienne était de 11,99%. Les pratiques d'hygiène incluant les douches vaginales (administration d'eau parfois associée à des agents nettoyants) étaient significativement associées à la vaginose bactérienne. Dans cette étude, d'autres facteurs de risques, tels que la fréquence élevée de lavage des organes génitaux avant les rapports sexuels et la faible fréquence de changement des sous-vêtements, ont pu être mis en évidence.

Dans une étude psychosociale par Payne *et al.* réalisée sur 23 femmes afro-américaines atteintes d'une vaginose bactérienne, 50% de celles-ci ont évoqué la pratique des lavages intra-vaginaux. Ceux-ci consistent à introduire un doigt avec du savon dans le vagin pour essayer de maîtriser les odeurs vaginales. Un quart des participantes affirmaient par ailleurs que des produits hygiéniques féminins (déodorants intimes, savons parfumés) leur seraient profitables. (63)

Les douches vaginales sont une pratique courante aux Etats-Unis (un tiers des femmes américaines la pratiquent). Selon une méta-analyse réalisée par Cottrell *et al.*, elles sont associées à un risque accru de vaginoses bactériennes, de naissances prématurées, de grossesses extra-utérines, de maladies inflammatoires pelviennes, d'endométrioses et de cancers du col de l'utérus. En outre, le déséquilibre provoqué par les douches vaginales provoquerait une élévation du risque d'infections sexuellement transmissibles telles que le VIH. (64)

En revanche, le lavage de la vulve est souhaitable afin de prévenir la contamination fécale, l'accumulation de pertes vaginales, de sueur ou d'urine, ainsi que les mauvaises

odeurs. Certains produits d'hygiène peuvent cependant augmenter le pH vaginal et ainsi altérer la composition du microbiote. (65)

2) Les différents produits utilisables et utilisés

L'hygiène intime quotidienne ne peut pas se faire à l'eau claire. En effet, se laver avec de l'eau claire seule altère le film hydrolipidique protecteur, accroissant la déperdition en eau de la muqueuse vulvaire et aggravant la sécheresse locale.(66) De plus, l'eau du robinet possède un pH basique (environ 8) contrairement à la zone vulvaire dont le pH se situe entre 4,8 (au niveau de l'entrée vaginale) et 6-7 (au niveau de la face externe des grandes lèvres). Une étude réalisée par H. Lambers *et al*/démontre qu'un lavage à l'eau peut augmenter le pH de la peau jusqu'à 6 heures après la toilette et donc modifier les conditions d'équilibre du microbiote local.(67) En outre, l'eau seule est inefficace pour éliminer les germes présents sur la peau.

Les savons de Marseille sont composés d'huiles végétales et de soude. Ce sont des savons en pain qui altèrent à terme le film hydrolipidique. Ils sont pour la plupart très alcalins avec un pH supérieur au pH physiologique de la peau (figure 16). Il en est de même pour les gels douches, qui présentent un risque de décapage de la peau en raison de la présence de laurylsulfate de sodium. En effet, tous les dérivés sulfatés peuvent déshydrater la peau. Par ailleurs, ils sont parfumés ce qui augmente le risque d'allergie locale. (66)

Les dermatologues recommandent d'utiliser des "savons sans savons", ou "syndets" pour "SYNthetic DETergents". Dans ceux-ci, le savon a été remplacé par des tensio-actifs moins irritants et moins déshydratants possédant un pH plus compatible avec celui de la peau. Ils existent majoritairement sous forme liquide, mais les "pains dermatologiques" (Syndets sous forme solide) peuvent également convenir à la toilette vulvaire. (66)

Les produits destinés à l'hygiène intime contiennent souvent des additifs, majoritairement d'origine végétale, aux bénéfices divers. A titre d'exemples, certains produits *Saforelle*® comportent de la bardane aux propriétés apaisantes, *Saugella vert*® contient du thym, un antiseptique naturel, ainsi que de la sauge, connue pour ses effets apaisants. Le produit *Hydralin sécheresse*® contient quant à lui de la camomille pour une action hydratante.

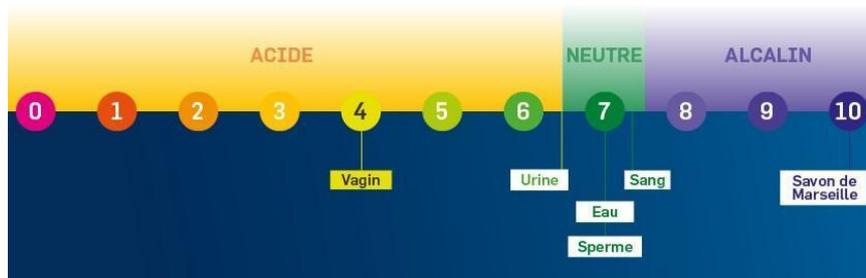


Figure 16 : pH du vagin et des différents fluides ou produits susceptibles de modifier celui-ci

i) Les antiseptiques

Tous les antiseptiques chimiques (*Septivon, Cytéal, Bétadine...*) sans exception éliminent les lactobacilles. Certaines femmes utilisent des antiseptiques pour faire leur toilette quotidienne, ce qui altère leur microbiote vaginal. Cependant, il existe des gels lavants contenant un antiseptique naturel, le thym, qui ne sont pas aussi agressifs envers le microbiote vaginal. Ces gels peuvent être utilisés pendant les périodes de règles, après avoir fait du sport (après la macération provoquée par la sueur), et chez les femmes sujettes aux infections. Il est cependant préconisé de ne pas utiliser ces gels lavants plus de 15 jours de suite.

Néanmoins, des antiseptiques locaux peuvent être prescrits par le médecin pour une durée d'utilisation bien limitée dans des indications bien précises (par exemple en cas de lésions externes) afin d'éviter une prolifération bactérienne pouvant créer une infection. (14)

ii) Les déodorants et lingettes intimes

Les déodorants et les lingettes intimes sont utilisés par certaines femmes dans le but de neutraliser les mauvaises odeurs. Chaque femme possède sa propre odeur intime, induite par la production de sueur et de sébum via les glandes sudoripares et les glandes sébacées logées dans les couches profondes de la peau, à la base des poils. Les déodorants peuvent agir de différentes manières. Ils peuvent être de simples parfums permettant de masquer les odeurs, mais il existe également des déodorants absorbant les sécrétions (comme le talc), détruisant les bactéries pathologiques responsables des odeurs (comme l'alcool), ou des anti-transpirants inhibant la sécrétion des glandes sudoripares (sels d'aluminium). (68)

Tous ces produits possèdent des composants irritants ou allergisants, de même que les lingettes intimes parfumées. Les odeurs génitales sont physiologiques et, si la toilette est réalisée quotidiennement, l'utilisation de ces produits n'est pas justifiée. (14)

3) L'épilation intégrale définitive

Dans la région génitale, les poils jouent un rôle important pour la protection et l'hydratation de la peau et de l'appareil génital féminin. Ils jouent un rôle protecteur vis-à-vis des agressions mécaniques dues aux sous-vêtements ou aux vêtements. Au niveau de la région intime, des glandes sébacées et des follicules pileux permettent d'hydrater et de protéger la muqueuse vaginale. On parle du film hydro-lipidique, composé de sueur et de sébum, et qui permet de protéger la peau du dessèchement. En cas d'épilation définitive, les poils et les glandes annexes sont éliminés et la peau s'assèche. De plus, la muqueuse glabre (sans poils) est beaucoup plus vulnérable. Ainsi, l'épilation définitive peut créer ou renforcer un déséquilibre du microbiote vaginal et vulvaire.(66)

4) Les règles hygiéno diététiques

Voici quelques règles énoncées par le RCOG (*Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*) qui peuvent servir de base pour l'hygiène intime quotidienne à une femme n'ayant pas de problèmes particuliers (tels que la dermatite de contact ou la vulvovaginite) :

- L'hygiène intime quotidienne est recommandée pour les femmes de tous âges afin de garder leur région génitale propre.
- Pour le savon intime : utilisez un détergent liquide hypoallergénique avec une détergence douce et un pH de 4,2 à 5,6.
- Évitez les savons en pain et les bains moussants, qui sont abrasifs et ont un pH plus alcalin
- Les liquides à base d'acide lactique (Lactacyd®, Hydralin® Quotidien), au pH acide, peuvent augmenter l'homéostasie de la peau et se sont avérés utiles dans les infections vaginales en tant que thérapie adjuvante mais pas en tant que traitement.
- Les douches vaginales ne sont pas recommandées.
- Portez des sous-vêtements amples en coton et évitez de porter des vêtements serrés.
- Changez de sous-vêtements tous les jours.
- N'utilisez pas de talc.
- Si vous utilisez des parfums et déodorants, faites le avec parcimonie (après un test d'allergie).

- Changez fréquemment les tampons et les serviettes hygiéniques.(65)

Le docteur Jean-Marc BOHBOT, gynécologue, émet quant à lui les recommandations suivantes :

- une à deux toilettes par jour, pas plus
- pas de lavage à l'eau claire
- éviter les savonnets classiques ou les savons de Marseille
- éviter les gels douches pour le corps
- pas d'utilisation d'antiseptiques chimiques au quotidien
- privilégier les vrais gels intimes qui hydratent
- boire suffisamment : 1.5L d'eau par jour pour pallier à la déshydratation et la sécheresse locale
- en cas de mycose récidivantes, privilégier un soin à pH légèrement alcalin
- initier les petites filles à l'hygiène intime
- ne pas se laver davantage pendant les règles ou pendant une infection (66)

C) Les rapports sexuels

1) L'impact des rapports sexuels

Comme vu précédemment dans la thèse, le pH d'un vagin en bonne santé est acide. Le sperme a quant à lui un pH neutre de 7 (figure 16).

Dans la majorité des cas, cette différence de pH aura peu d'impact sur le microbiote vaginal. En effet, des chercheurs ont démontré qu'une demi-heure après le rapport sexuel le pH vaginal revenait à pH acide. Cela est possible grâce aux lactobacilles qui ont fait un "effet tampon" : ils ont consommé le glycogène pour produire de l'acide lactique et acidifier le vagin.

Chez les femmes au microbiote vaginal déséquilibré et pauvre en lactobacilles, un risque de déséquilibre peut exister après chaque rapport sexuel. (14)

En revanche, chez la majorité des femmes en bonne santé, les activités sexuelles n'ont pas d'effets néfastes sur le microbiote vaginal. Dans une étude menée par Hooton *et al.*, les rapports sexuels avaient peu d'effet sur le microbiote vaginal mise à part une légère élévation de la prévalence des colonisations par *E.coli* (passant de 13 à 18% des femmes, $p < 0.05$). La prévalence des streptocoques des groupes B et D, de *Candida albicans* ou encore des lactobacilles était presque identique entre les deux groupes.(57)

2) L'impact du nombre de rapports sexuels et des comportements pendant ceux-ci

Une étude cas-témoin a permis d'évaluer les risques des comportements sexuels vis-à-vis de pathologies génitales féminines et plus précisément des vulvovaginites à *Candida*. Les participantes comprenaient 156 femmes atteintes de vulvovaginite à *Candida* et 92 témoins, âgées de 18 à 60 ans. (69)

La présence d'une vulvovaginite à *Candida* était positivement associée à un cunnilingus le mois précédent (OR= 1.7, p=0.06), mais était inversement corrélée à la masturbation avec salive au cours du mois précédent (OR = 0,30 si cinq fois contre aucune fois, p=0.04). Parmi les autres facteurs de risque indépendants, on retrouvait une courte durée de relation avec le partenaire sexuel (OR = 1,56 pendant 1 an contre 5 ans, p=0.003).

Cependant, les auteurs précisent que d'autres facteurs (tels que la réponse immunitaire et les interactions avec la salive) peuvent entrer en jeu et moduler ces facteurs de risque. Chez une femme souffrant de troubles tels que la vulvovaginite, il est conseillé d'éviter les risques décrits par cette analyse mais l'évaluation de l'impact du changement de comportement doit être faite afin d'éviter une réduction inutile des activités. Des recherches supplémentaires sont également nécessaires pour préciser la physiopathologie de ces relations. (69)

3) Les conséquences des premiers rapports sexuels

Une étude par Jaspers *et al.* en milieu scolaire a été réalisée durant 8 mois sur 93 jeunes filles, avec pour but de déterminer l'impact des premiers rapports sexuels sur la santé vaginale des jeunes filles. Les participantes ont dû répondre à des questionnaires puis ont réalisé des auto-prélèvements oraux, vaginaux et anorectaux. Plusieurs espèces de bactéries et de marqueurs inflammatoires ont été recherchés. (70)

Le fait d'avoir eu une expérience sexuelle avant la première visite n'était pas associé à la présence ou à une différence de concentration des espèces. En revanche, les débuts sexuels étaient plus fréquemment associés à la présence de *G. vaginalis* et *A. vaginae*, ainsi qu'à une augmentation significative de certains marqueurs de l'inflammation comme les interleukines (IL-1 α , IL-1 β , IL-8) et les chimiokines (p<.001).

L'association des rapports sexuels avec les interleukines lors de la première visite était due à plus de 70 % aux concentrations vaginales de *G. vaginalis* et d'*A. vaginae*. Or, ces deux bactéries sont impliquées dans la vaginose bactérienne.

Cette étude permet de comprendre que les débuts sexuels chez les adolescentes sont associés à une réaction vaginale inflammatoire et à la présence d'espèces bactériennes apparentées à la vaginose. (70)

4) Des rapports sexuels irréguliers

Le vagin est un organe dont la souplesse naturelle est d'autant plus importante que les rapports sexuels sont réguliers. Les avantages de rapports sexuels fréquents sont multiples:

- La muqueuse vaginale est considérablement lubrifiée: en effet, l'accélération cardiaque liée à l'excitation sexuelle provoque un afflux de sang dans les vaisseaux, très nombreux au niveau vaginal. Une partie du sang (le sérum) va traverser la muqueuse par capillarité et entraîner la lubrification. Cette lubrification permet d'améliorer la souplesse du vagin tout en épaississant la muqueuse vaginale, et son effet perdure plusieurs jours après le rapport sexuel.
- La muqueuse vaginale se défend d'autant mieux contre les virus possiblement présents lors de la pénétration, mais également contre les pathogènes intravaginaux. En effet, lors de l'excitation les glandes de Bartholin (au niveau du col de l'utérus) et les glandes de Skene (au niveau de la vulve) sécrètent un mucus riche en myéloperoxydase. Celle-ci s'associe alors au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour agir contre les pathogènes tels que le virus de l'herpès. (14)

Cependant, l'excès de rapports sexuels peut-être nuisible car le vagin peut " fatiguer" et les irritations et l'inconfort peuvent survenir. Inversement, plus les rapports sont irréguliers, plus la femme souffrira de sécheresse ainsi que d'autres inconforts comme des échauffements, des irritations, de la fragilité et des infections. Pour que tout le mécanisme de lubrification soit possible, il faut une source d'excitation.

La reprise des rapports sexuels après une période d'abstinence sexuelle prolongée (plusieurs mois voire plusieurs années) peut être compliquée pour la femme et son partenaire. En effet, celle-ci possède une paroi vaginale amincie. Même en cas d'excitation, les irritations peuvent être présentes et les frottements peuvent être douloureux voire insupportable pour la femme. Cette situation peut également être vécue à la ménopause ou quand une femme enchaîne des infections vaginales à répétition.

Des estrogènes peuvent être prescrites pour réhydrater la zone, favoriser un

épaississement de la paroi vaginale et stimuler les glandes de Bartholin et Skene. Si les hormones ne peuvent pas être prescrites, il existe des produits lubrifiants et hydratants qui permettent de réhydrater la zone (exemple : *Mucogyne*).

Les probiotiques peuvent également être une solution en complément, car ils ont montré qu'ils possédaient le pouvoir de limiter la sensation de sécheresse. (14)

5) Les relations homosexuelles

Les rapports sexuels homosexuels féminins exposent davantage au risque de déséquilibre du microbiote vaginal. Les explications scientifiques manquent sur ce sujet mais une grande similitude de la composition des microbiotes vaginaux est observée chez ces couples. (66)

6) L'utilisation du lubrifiant

i) les caractéristiques des bons/ mauvais lubrifiants

Les lubrifiants sont utilisés lors des rapports sexuels pour limiter les échauffements et les irritations des muqueuses. Ils sont souvent utilisés en période de pré-ménopause et ménopause pour prévenir ou traiter l'atrophie vulvo-vaginale. Les lubrifiants hydratants sont largement utilisés quand l'utilisation d'oestrogènes n'est pas possible. Cependant, l'osmolarité et le pH de ces lubrifiants ne sont la plupart du temps pas adaptés. Il faut opter pour un produit possédant une osmolarité et un pH similaires au corps, afin de réduire l'irritation endothéliale. (71)

Une trop grande osmolarité risque de provoquer une déshydratation des cellules en contact avec le lubrifiant. Le comble d'un lubrifiant inadapté au microbiote vaginal est qu'il puisse provoquer une sécheresse...

Concernant la composition, les produits contenant de l'acide hyaluronique doivent être privilégiés pour leur efficacité. Ces lubrifiants doivent également être exempts de parabènes, de chlorhexidine et de Polyquaternium-15, en raison de potentiels effets indésirables (allergisant, irritant) (71).

ii) Liste des lubrifiants testés par l'OMS

Produits	pH	Osmolarité (mOsm/kg)
Fillegyn®	4.5 +/- 0.1	991 +/- 6
Geliofil classic®	3.8 +/- 0.1	3582 +/- 11
Gelsea®	5.7 +/- 0.1	3797 +/- 16

Tableau 3 : Exemples de lubrifiants sur le marché. (66)

La valeur du pH recommandé avoisine les 3.5-4.5. L'osmolarité souhaitée et acceptable se situe dans un intervalle de 380 à 1200 mOsm/kg. (71)

Le tableau 3 illustre trois exemples de lubrifiants sur le marché. Seul le Fillegyn® présente des caractéristiques comprises dans les critères d'un bon lubrifiant.

D) Consommation

1) Le tabac

En plus d'être un facteur de risque bien connu de pathologies cardiaques et de plusieurs cancers, la consommation de tabac est indéniablement responsable d'une dégradation du microbiote vaginal. Chez les femmes fumeuses, le taux d'oestrogènes dans le sang et dans la muqueuse vaginale est diminué, impliquant une baisse de la quantité de glycoène et de lactobacilles protecteurs. (14)

Une étude par Brotman *et al.* a mis en évidence que la proportion de fumeuses actives était 25 fois plus élevée chez les femmes dont le nombre de lactobacilles était trop faible par rapport aux femmes dont le microbiote était dominé par *Lactobacillus crispatus*. (72) De même, d'après une étude de Hellberg *et al.* portant sur 956 patientes, le risque de développer une vaginose bactérienne est multiplié par 3 chez une fumeuse, après élimination des différents facteurs de confusion (73).

Outre cet effet nocif sur le microbiote, de la nicotine, de la cotinine (son principal métabolite), mais également des amines comme la tryptamine, la cadavérine ou la putrescine ont été retrouvées de manière importante dans la muqueuse vaginale de femmes fumeuses. Ces amines sont notamment connues pour favoriser l'infection par des bactéries anaérobies telles que *Neisseria gonorrhoeae*. (74)

Après l'arrêt de la cigarette, un trimestre entier est nécessaire pour retrouver un microbiote vaginal équilibré. L'utilisation des probiotiques pourra alors être conseillée afin d'accélérer le processus de retour à l'homéostasie. (66)

2) Le cannabis

Le cannabis provoque une diminution du taux d'oestrogène dans le sang et dans le vagin. De ce fait, le risque de déséquilibre de la flore et d'infections vaginales s'en trouve accru (14)

III) Les dysbioses d'origines endogènes

A) Les pathologies

1) Le diabète

Le diabète est caractérisé par une augmentation du taux de glucose dans le sang, provoquant de nombreux symptômes (polyurie, fatigue...). Il existe deux principaux types de diabète : le diabète de type 1 est provoqué par une maladie auto-immune (MAI) responsable d'une destruction des îlots de Langerhans (responsables de la sécrétion des hormones permettant une régulation de la glycémie) au niveau du pancréas. Le diabète de type 2 ("diabète sucré"), quant à lui provoqué par une mauvaise hygiène de vie, est engendré par une diminution de la production d'insuline (hormone hypoglycémisante) du fait d'un épuisement des cellules bêta des îlots de Langerhans.

Il existe une augmentation du risque de candidoses vulvo-vaginales (VVC) par les levures chez les patientes diabétiques. En effet, en cas de diabète mal équilibré, la concentration sanguine élevée en glucose va entraîner un appel d'eau des cellules vers le sang pour essayer de rétablir un équilibre osmotique. Cet appel d'eau va provoquer une augmentation du volume sanguin total et donc de la quantité d'urine émise. Cette perte d'eau va provoquer une déshydratation cellulaire et une sécheresse tissulaire (buccale, vaginale...). Cette déshydratation va se traduire par une augmentation de la colonisation des agents pathogènes.(66)

Les pathogènes retrouvés sont *C.albicans* et *C.glabrata*. Ce dernier est un agent pathogène fréquemment retrouvé chez les diabétiques de type 2. Il est moins virulent mais également moins sensible aux traitements antifongiques classiques.

Dans une étude réalisée par Hirji *et al* sur plus de 100 000 femmes (75), le risque de candidose était près de deux fois plus élevé parmi les 20% de patients dont l'hémoglobine glyquée était la plus élevée (l'hémoglobine glyquée, ou HbA1c, est un marqueur de l'équilibre du diabète). Une glycémie élevée favorise la croissance des levures (qui consomment les chaînes carbonées du glucose pour se fournir en énergie) et interfère avec les réponses immunitaires de l'hôte. En effet, une hyperglycémie inhibe la fonction des cellules neutrophiles (aux rôles de défense immunitaire de l'organisme, notamment face aux levures), qui ne remplissent alors plus leur rôle de destruction oxydative de *C. albicans*. Les neutrophiles des patients diabétiques sont ainsi moins fongicides que ceux des patients sains.

De plus, *Candida albicans* exprime une protéine inductible par le glucose, qui

compromet la phagocytose de l'hôte et favorise l'adhérence de la levure sur les tissus vaginaux. Une étude de Jackson *et al* montre ainsi une altération de la phagocytose des leucocytes chez les patients diabétiques en comparaison des patients non diabétiques. (76) Ainsi, le maintien d'une euglycémie chez ces patients est important pour favoriser la guérison, en plus de la crème et d'un ovule antifongique nécessaires pour traiter l'infection. (77) En effet, le traitement de première intention pour une mycose vaginale est d'associer la crème et l'ovule. Il existe différentes molécules telles que Econazole® ou Monazol®. Ces médicaments sont des dérivés azolés qui ont une action antifongique et antibactérienne, en agissant sur différents niveaux des pathogènes (membranaire, nucléaire, cytoplasmique) pour les neutraliser et ainsi enrayer la prolifération.

2) L'immunodépression : l'exemple du VIH

Les lactobacilles vaginaux servent de barrière face à la multiplication de plusieurs micro-organismes pathogènes, et il semblerait que le VIH ne fasse pas exception.

En effet, une étude *in vitro* par SK Lai *et al.* a montré que dans un vagin au mucus acide (pH de 4), le virus se déplace 1000 fois plus lentement que dans l'eau. En revanche, dans un vagin dont le mucus est à pH neutre (pH de 7), la vitesse du virus est seulement 15 fois plus lente que dans l'eau. On peut voir sur la figure 17 que la vitesse du virus *in vitro* est très fortement diminuée à un pH acide.

La raison de ce ralentissement est une forte adhésion du VIH au mucus en présence d'acide lactique. Celui-ci semble supprimer les charges négatives présentes à la surface du virus et déstabiliser la structure de ses protéines de surface. Ainsi, ce n'est pas l'acidité en elle-même mais l'acide lactique qui serait responsable de cette protection. (78)

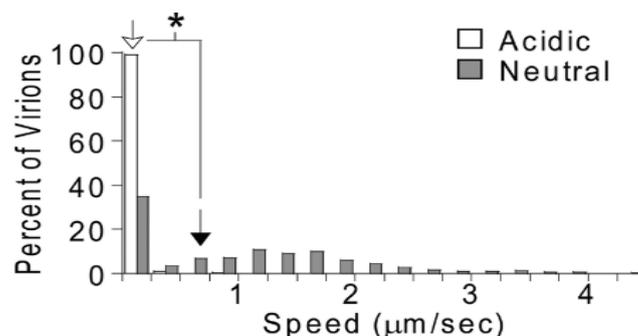


Figure 17 : Répartition de la vitesse de déplacement des virions du VIH-1 dans des milieux acides ou neutres, représentant un vagin au pH acide ou neutre (78)

Ces résultats sont confirmés en population réelle dans une étude par HL Martin *et al.*, menée sur 657 femmes kényanes séronégatives suivies chaque mois. Au premier prélèvement, 28% des femmes étaient colonisées par des espèces de lactobacilles. Durant le suivi, une absence de lactobacilles vaginaux était associée à une augmentation significative du risque d'infection par le VIH-1 (OR=2.0) mais aussi par l'agent de la gonorrhée (*Neisseria gonorrhoeae*), après élimination des autres facteurs de risque. (79)

3) Le cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est provoqué par une infection du milieu vaginal et utérin par certaines souches de papillomavirus humain (HPV). Plusieurs études semblent montrer qu'un microbiote vaginal anormal prédispose à une infection par ce virus.

Le microbiote cervico-vaginal de 21 femmes atteintes d'un cancer cervical invasif a été investigué dans une étude (*Cervical-vaginal flora of women with invasive cervical cancer*). Les patientes cancéreuses présentaient une diminution de la fréquence d'isolement de lactobacilles aérobies, des *Staphylococcus epidermidis* et des entérocoques. En outre, les chercheurs ont mis en évidence une fréquence accrue d'isolement des espèces *E. coli* et du genre *Bacteroides*. (80)

Une étude réalisée par Mitra *et al.* sur plus de 150 patientes a également montré que, chez les patientes présentant un carcinome épidermoïde de haut grade, un plus faible taux de lactobacilles était observé ($p < 0.01$), ainsi qu'une plus grande diversité bactérienne, en comparaison des patientes présentant un carcinome de bas grade. Une plus grande sévérité du cancer était associée à un microbiote vaginal perturbé, bien que le cancer puisse avoir lui-même une influence négative sur la composition du microbiote et potentiellement créer un cercle vicieux. (81)

De même, Oh *et al.* ont également démontré qu'une faible quantité de *Lactobacillus crispatus* était liée à un plus haut risque de néoplasie du col de l'utérus (OR=5.80). (82)

4) Les MICI chez une femme enceinte

Les MICI (Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin) comprennent la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Ces deux pathologies peuvent toucher tout l'appareil digestif et sont découvertes généralement à l'âge de 20 à 30 ans bien qu'elles puissent apparaître à tout âge de la vie. Les MICI peuvent se manifester par des troubles digestifs

(douleurs abdominales, diarrhées), une grande fatigue, des manifestations rhumatismales ou des troubles cutanés.

Les maladies inflammatoires non traitées sont un risque de grossesses prématurées, et la situation hormonale et immunitaire des femmes atteintes de MICI représente un surrisque d'infections vaginales.

Une étude menée par Klara Rosta *et al.*, incluant 539 femmes enceintes asymptomatiques s'est intéressée au microbiote vaginal de femmes atteintes de maladies inflammatoires rhumatismales et de MICI.

En comparaison aux femmes témoins, un microbiote vaginal anormal était observé plus fréquemment chez les femmes souffrant de MICI (33,8 % contre 15,6 %). De plus, la colonisation par *Candida* (22,3 % contre 9,2 %), ainsi que la vaginose bactérienne (14,9 % contre 7,2 %), survenaient plus fréquemment chez les femmes malades que chez les femmes du groupe témoin. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été trouvée concernant la survenue d'un microbiote vaginal anormal entre les sous-groupes avec et sans traitement immunomodulateur.

Selon les auteurs de l'étude, ce risque supplémentaire d'infections explique en partie les risques de grossesses prématurées chez ces femmes. Il semble donc nécessaire d'établir un suivi particulier de ces facteurs de risque durant la grossesse des femmes atteintes de MICI. (83)

B) Les influences hormonales

La femme connaît, durant toute sa vie, des variations physiologiques: les règles, la grossesse et la ménopause. Comme vu précédemment dans la première partie de la thèse, le microbiote vaginal évolue au même titre que le corps de la femme change. Pendant la période des règles, le pH vaginal augmente et la quantité de lactobacilles diminue. Dans le même temps, la quantité de staphylocoques dorés peut augmenter et provoquer le syndrome du choc toxique. Celui-ci survient lorsque les règles de bonne utilisation des tampons ou des coupes (cups) menstruelles ne sont pas respectées: quand ces protections hygiéniques sont conservées trop longtemps (plus de 4 à 6 heures) à l'intérieur du vagin, l'écoulement de sang et donc des bactéries hors du vagin n'est plus possible. Les bactéries prolifèrent alors à l'intérieur du vagin, provoquant alors ce syndrome du choc toxique. Ce syndrome est potentiellement mortel mais reste heureusement rare. Par les mêmes mécanismes, les vaginoses bactériennes peuvent également se développer plus facilement pendant cette période du cycle, lors de laquelle le pH vaginal augmente. (84)

L'équipe de Eschenbach *et al.* a étudié la problématique de la variation des agents pathogènes pendant les menstruations. Il en conclut que la période des menstruations est la période lors de laquelle l'organisme est le plus vulnérable au développement de vaginoses, et notamment de vaginoses bactériennes.(33) A la fin des règles, le pH diminue à nouveau pour redevenir plus acide et les lactobacilles redeviennent majoritaires.

Au cours de la grossesse, plusieurs hormones modifient le corps de la femme : l'oestrogène, la progestérone, l'ocytocine... Pour rappel, l'augmentation d'oestrogènes engendre une augmentation du nombre de lactobacilles, et permet alors de garantir la meilleure protection possible pour le fœtus. Cependant, la synthèse du glycogène va elle aussi augmenter, ce qui va permettre de donner de "l'énergie" aux lactobacilles mais également à *Candida albicans*, ce champignon microscopique présent physiologiquement dans le microbiote mais capable d'engendrer une mycose lorsqu'il s'y trouve en quantité trop importante. Cette production importante de glycogène va permettre au champignon de se développer: les femmes enceintes sont donc plus sujettes aux mycoses vaginales.

Durant le post-partum, les hormones s'effondrent et les cellules vaginales qui recevaient de grandes quantités d'estrogènes produisent alors moins de glycogène. Ce phénomène engendre un risque de sécheresses vaginales, de vaginites (une inflammation de la paroi vaginale s'accompagnant d'irritations et de brûlures) ou de vaginoses. Le microbiote vaginal se régénère habituellement en quatre à six semaines après l'accouchement.

La ménopause est caractérisée par une diminution de la sécrétion d'estrogènes, une atrophie de l'épithélium vaginal et une élévation du pH vaginal. (84) La femme est dite ménopausée quand elle n'a plus eu de règles pendant douze mois consécutifs. C'est un processus physiologique causé par un arrêt de l'ovulation, survenant entre 45 et 55 ans en moyenne. Une étude par Nappi *et al.* a inclus une cohorte de 3768 femmes ménopausées présentant des symptômes d'atrophie vulvaire et vaginale dans quatre pays européens. Parmi les femmes de l'étude, 55 à 70% souffraient de sécheresse vaginale, 29 à 44% souffraient de douleurs pendant les rapports sexuels (dyspareusie) et 37% souffraient d'irritations locales. (85) Les femmes dont la qualité de vie est trop impactée et sans contre-indications peuvent alors être traitées par des THM: Traitement Hormonal de la Ménopause (86)

Hillier *et al.*, dans une étude menée sur le microbiote vaginal de 73 femmes post-ménopausées sans historique de THM, ont cherché à déterminer la différence de composition provoquée par la période post-ménopause. Il s'est avéré que les levures et les bactéries fréquemment associées aux vaginoses bactériennes étaient moins présentes chez les

femmes ménopausées que chez des femmes en âge de procréer, ce qui pourrait expliquer une diminution de l'incidence de vaginoses bactériennes et de vulvovaginites à *Candida* chez ces femmes. Pour exemple, la bactérie *Mycoplasma hominis* n'a été isolée chez aucune des 73 femmes post-ménopausées, contre 23 des 132 femmes en âge de procréer. (86)

C) Le stress

Le stress est une réaction physiologique, mais pouvant devenir pathologique lorsqu'il survient de manière chronique. Il engendre plusieurs types de réponses physiologiques très efficaces sur le moment afin de permettre une adaptation du corps, à travers la production d'adrénaline et de cortisol. Ces hormones mobilisent les défenses du corps humain à travers l'accélération du rythme cardiaque, la production de sucre pour les muscles... Cependant, la production de ces hormones au long cours provoque une diminution des défenses immunitaires (diminution de l'activité des lymphocytes...). Dans une étude par Nansel, Tonja R. *et al.*, réalisée durant 1 an et incluant 3614 femmes, il a été démontré que les femmes subissant un stress psycho-social chronique présentaient 30% de risques supplémentaires de développer une vaginose bactérienne, indépendamment des autres facteurs de risque. Sur une échelle de 5, les participantes développant une vaginose bactérienne pendant l'étude avaient un score de stress psychosocial supérieur (2.71 vs 2.58 sur une échelle de 5, $p=0.0005$). (87)

IV) Les Probiotiques

A) Les généralités

1) Définitions et historique

Le terme “probiotiques” vient du grec «pros» et «bios» signifiant «pour la vie». Leur définition a évolué avec l'évolution des connaissances de leurs mécanismes d'action.

Depuis 2002, la définition officielle du mot probiotique, adoptée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) est la suivante: «micro-organisme vivant qui lorsqu'il est administré en quantité suffisante, exerce un effet bénéfique pour la santé de l'hôte». (29)

Les premières applications des probiotiques ont concerné le traitement ou la prévention de pathologies gastro-intestinales, comme les infections liées à *Clostridioides difficile*. Dans la majorité des cas, les espèces utilisées sont des bactéries à Gram positifs appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. D'autres genres de bactéries peuvent cependant être utilisés, allant des bactéries à Gram négatif comme *Escherichia coli* à des souches telles que les streptocoques. Enfin, certaines levures, comme *Saccharomyces boulardii*, peuvent également être utilisées en tant que probiotiques. (88) Les probiotiques sont retrouvés dans diverses sources: dans l'alimentation (yaourts, produits fermentés), dans les compléments alimentaires et dans les médicaments (Ultra-levure®, Lactéol®).

Bien que le terme “probiotique” n'ait été utilisé pour la première fois qu'en 1953 par le bactériologiste Werner Kollath qui les définissait comme des “substances actives nécessaires à une vie en bonne santé”, les recherches les concernant sont plus anciennes.

S'appuyant sur les travaux de Pasteur, le pédiatre français Henri Tissier avait constaté dès 1899 que la bactérie *Bifidobacterium bifidum* était présente en plus grande quantité chez les enfants ne souffrant pas de diarrhées. Il eut alors l'idée de les administrer aux patients souffrant de diarrhées afin de guérir leurs symptômes.

En 1908, Elie Metchnikoff, professeur de microbiologie à l'Institut Pasteur, décrivait les bénéfices des laits fermentés et de leurs composés actifs. Il soutenait l'existence d'une association entre la longévité des bulgares et une importante consommation de yaourt, riche en bactéries. Il parlait alors de “combattre les microbes par les microbes”. Les bactéries lactiques décrites par Metchnikoff sont encore considérées comme les premiers probiotiques.

En 1974, R.B. Parker propose une nouvelle définition afin d'y inclure les micro-organismes ainsi que les métabolites microbiens produits. Pour lui, les probiotiques sont des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ». (89)

Ces 20 à 30 dernières années, l'intensification des recherches dans le domaine des probiotiques et du microbiote a permis des progrès dans la sélection et la caractérisation de cultures de probiotiques. Les micro-organismes les plus fréquemment utilisés de nos jours sont les bactéries du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui ont été utilisées.

2) Réglementation et mise sur le marché

Bien que certaines souches probiotiques fassent partie de la composition de médicaments (Lactéol®, Ultra-Levure®, Florgynal®...), la majorité des souches vendues en pharmacie ne possèdent qu'un statut de compléments alimentaires.

Afin de comprendre les difficultés posées par ce statut, il faut appréhender les différences entre un complément alimentaire et un médicament.

Pour obtenir un statut de médicament, un produit doit faire l'objet de coûteuses études évaluant son efficacité et sa toxicité. Il peut alors obtenir son autorisation de mise sur le marché (AMM), valable pour une indication donnée à une posologie donnée.

Les compléments alimentaires, en revanche, ne peuvent se targuer de posséder des propriétés pharmacologiques susceptibles de guérir une maladie. Une simple demande d'enregistrement auprès de la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes) suffit à leur mise sur le marché. Ils sont donc destinés à une population non malade et ne peuvent avancer que des propriétés nutritionnelles ou physiologiques. Par exemple, une allégation de santé des compléments alimentaires est de "contribuer à un métabolisme énergétique normal" tandis qu'il leur est interdit de prétendre "réduire la fatigue".

Les probiotiques étant souvent vendus en tant que compléments alimentaires, différents problèmes se posent à un patient souhaitant en bénéficier.

Tout d'abord, toutes les souches vendues en pharmacie n'ont pas fait l'objet d'études de qualité suffisante (nombre de patients acceptable, étude en double aveugle, critères d'efficacité clairement définis) pour prétendre à un choix éclairé du patient. Ceux-ci peuvent être piégés par le nom familier d'une espèce de probiotiques, sans savoir que différentes souches d'une même espèce peuvent avoir une efficacité très différente pour une indication donnée.

L'efficacité de certaines souches probiotiques est bien documentée dans de

nombreuses indications (dont plusieurs ayant trait au microbiote vaginal) et certains fabricants fournissent des études cliniques. Il est important pour le pharmacien d'analyser celles-ci afin de pouvoir fournir des conseils de qualité au comptoir.

Par ailleurs, les souches utilisées sont des organismes vivants et il est nécessaire pour une efficacité optimale que celles-ci arrivent vivants au milieu voulu. Ainsi, deux souches identiques produites ou conditionnées par deux laboratoires différents n'auront pas la même efficacité. En effet, le statut de complément alimentaire étant plus souple que celui de médicament, les fabricants ne sont pas soumis aux mêmes règles en matière de qualité et seul le distributeur est responsable de la conformité de la mise sur le marché du produit. (90) Le tableau ci-dessous récapitule les différences entre le statut de médicament et les compléments alimentaires possédant des allégations de santé.

Médicaments	Compléments alimentaires
<ul style="list-style-type: none"> - Propriétés pharmacologiques et efficacité clinique reconnues - Destinés à des populations malades, pour une indication donnée et à une posologie donnée - Obtention d'une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) après avoir fait l'objet de nombreux tests précliniques et cliniques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Propriétés nutritionnelles ou physiologiques uniquement - Destiné à une population non malade - Pas d'AMM mais une simple demande d'enregistrement à la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes).

Tableau 4 : Principales différences entre un médicament et un complément alimentaire.

Le règlement de l'Union européenne n°432-2012 établit une liste des allégations de santé autorisées sur les denrées alimentaires. Ces allégations de santé doivent reposer sur des preuves scientifiques généralement admises (donc pas nécessairement obtenues sur le produit en lui-même). C'est la différence avec le médicament où les preuves scientifiques doivent être prouvées par le biais de tests précliniques (*in vitro* ou *in vivo* sur des animaux) puis par des tests cliniques sur des volontaires malades et sains.

Les probiotiques (sous forme de compléments alimentaires) entrent dans deux types d'allégations :

- l'allégation de type A, qui concerne les effets permettant de réduire le risque de maladie.
- l'allégation de type B, qui concerne les effets "fonctionnels".(89)

3) Etiquetage

Les probiotiques ont des règles d'étiquetage particulières, et leur conditionnement doit présenter un certain nombre d'informations :

- le nom exact du ou des probiotiques contenus, incluant le genre, l'espèce et la souche
- la concentration de la souche (ou des souches) de probiotiques contenus dans la préparation
- la durée minimale d'utilisation pour l'effet allégué
- les recommandations de conservation et d'utilisation du produit
- l'adresse de la société commercialisant le produit. (figure 18). (89).



Figure 18 : Eléments devant figurer sur le conditionnement des probiotiques. Exemple de Lactibiane® Référence (89)

4) Classification

Les probiotiques sont composés soit de bactéries (de type à Gram positif ou à Gram négatif), soit de levures. Ces micro-organismes sont physiologiquement retrouvés dans le corps humain, généralement au niveau du microbiote intestinal.

Il existe plusieurs grands groupes regroupant les principaux micro-organismes probiotiques (tableau 4). Tout d'abord, on retrouve les bactéries lactiques comprenant les lactobacilles et quelques coques. Ce sont les plus représentées, elles fermentent les glucides pour induire la production d'acide lactique. Un autre groupe comprend les bifidobactéries, qui ont le potentiel de dégrader le glucose en acide lactique et en acide acétique. On trouve enfin le groupe des levures, comprenant notamment la souche *Saccharomyces cerevisiae var boulardii*. qu'on peut retrouver dans Ultra-Levure ®. (89)

Une souche probiotique est classée par genre puis par espèce, et possède une désignation alphanumérique unique selon une nomenclature spécifique reconnue. On obtient par exemple : *Lactobacillus gasseri* LMG 26661, *Lactobacillus crispatus* DSM 24619.

Genre	Espèce
<i>Lactobacillus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>L. rhamnosus</i> - <i>L. acidophilus</i> - <i>L. casei</i> - <i>L. gasseri</i> - <i>L. plantarum</i> - <i>L. bulgaricus</i> - <i>L. reuteri</i> - <i>L. sporogenes</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>B. infantis</i> - <i>B. longum</i> - <i>B. breve</i> - <i>B. bifidum</i> - <i>B. adolescenti</i>
<i>Lactococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>L. lactis</i> - <i>L. cremoris</i>
<i>Streptococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>S. thermophilus</i>
<i>Pediococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>P. pulmilus</i> - <i>P. laterosporus</i> - <i>P. clausii</i> - <i>P. subtilis</i> - <i>P. cereus</i> - <i>P. licheniformis</i> - <i>P. megaterium</i>
<i>Saccharomyces</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>S. cerevisiae</i> - <i>S. cerevisiae var boulardii</i>

Tableau 5 : Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques, classées par genre et espèces. (89)

5) Mécanismes d'action des probiotiques

Selon les souches utilisées, les mécanismes d'action des probiotiques peuvent différer. Certains ont une action directe en inhibant la croissance des pathogènes potentiels, tandis que d'autres ont une action plus indirecte, par exemple en accaparant les nutriments nécessaires à la croissance et à la survie des pathogènes. Certains probiotiques peuvent bien sûr combiner plusieurs effets pour plus d'efficacité. L'association de plusieurs souches de

probiotiques peut également faire sens afin de combiner au mieux plusieurs mécanismes d'action. Voici les principaux mécanismes d'action recherchés dans une souche probiotique :

- Compétition pour les nutriments

L'un des effets des probiotiques est l'utilisation compétitive de certains nutriments nécessaires à la survie des pathogènes. Ils rentrent alors en concurrence avec ceux-ci et diminuent la quantité de nutriments utilisables. Par exemple, le fer est un nutriment très utilisé par de nombreuses bactéries. Des probiotiques tels que *L.acidophilus* ou *L.delbrueckii* sont capables de lier l'hydroxyde de fer à leur surface et de le rendre inutilisable pour les micro-organismes pathogènes. (91)

- La fermentation de composants alimentaires

La fermentation par certains probiotiques d'aliments digérés tels que les protéines (fermentation protéolytique) produit notamment des composés toxiques comme le phénol ou l'ammoniac. Ces molécules toxiques sont capables de s'attaquer aux organismes pathogènes. (92)

- Antagonisme direct par production de liaisons antibactériennes et de mucine

Comme vu précédemment dans la thèse, les lactobacilles vaginaux produisent de l'acide lactique qui diminue le pH vaginal, ce qui aboutit à un milieu plus hostile aux bactéries pathogènes.

Certains de ces lactobacilles produisent également des bactériocines capables d'entraver la croissance de ces pathogènes. Dans une étude par Aroutcheva *et al.*, il a été démontré que 80% des types de lactobacilles vaginaux produisaient des bactériocines capables d'inhiber *Gardnerella vaginalis*. Certains de ces lactobacilles comme *L.rhamnosus* sont aujourd'hui utilisés en tant que probiotiques. (93)

- Concurrence sur les fixations

Certains probiotiques sont capables de se fixer sur des récepteurs nécessaires au développement des pathogènes. Par exemple, il a été démontré par Falah *et al.* que *L.fermentum* était capable d'inhiber l'adhésion d'*Escherichia coli* aux muqueuses par des mécanismes de compétition. (94)

- Régulation du système immunitaire

Certaines souches ont un rôle dans la régulation des mécanismes inflammatoires. Il a ainsi été démontré par Hegazy *et al.* que l'administration de certaines espèces de lactobacilles (*L.fermentum*, *L.delbrueckii*) pendant 8 semaines pouvait induire une diminution de l'expression de facteurs de l'inflammation (IL-6, TNF-alpha, NF-kB p65...) chez un groupe de 30 patients atteints de colite ulcéreuse. (95)

Le schéma ci-dessous (figure 19) récapitule les différents mécanismes d'action attribués aux probiotiques. Bien sûr, chaque souche sera différente et toutes n'auront pas les mêmes mécanismes ni les mêmes cibles. (92)

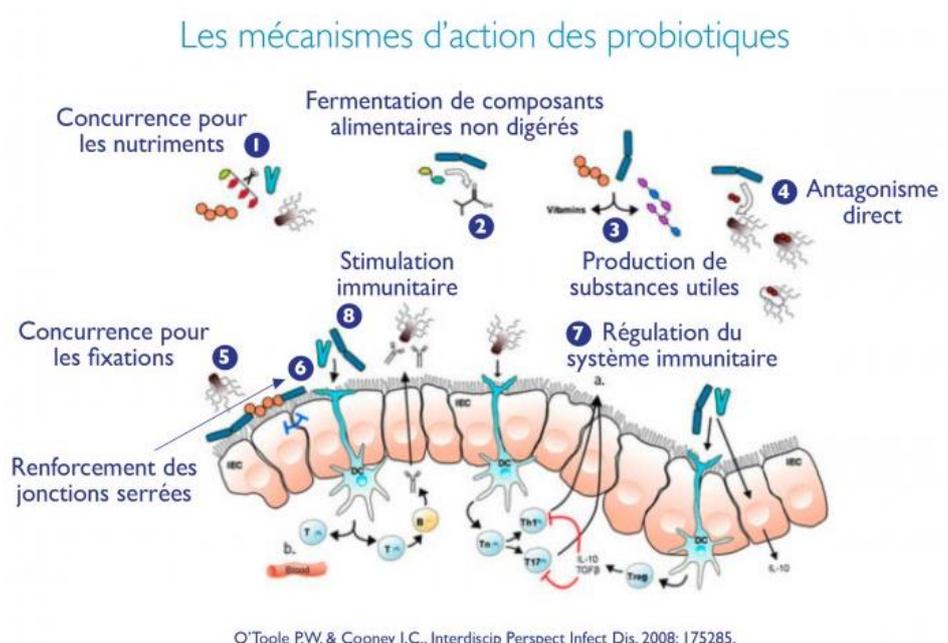


Figure 19 : Mécanismes d'action des probiotiques. (92)

6) Caractéristiques, formulations et concentration des probiotiques

Deux possibilités s'offrent aux femmes souhaitant utiliser les probiotiques afin de rétablir un équilibre au niveau vaginal: les probiotiques par voie orale ou les probiotiques par voie vaginale

i) Caractéristiques communes des probiotiques

Les souches probiotiques doivent posséder certaines caractéristiques afin d'atteindre leur site d'action et pouvoir agir (figure 20).

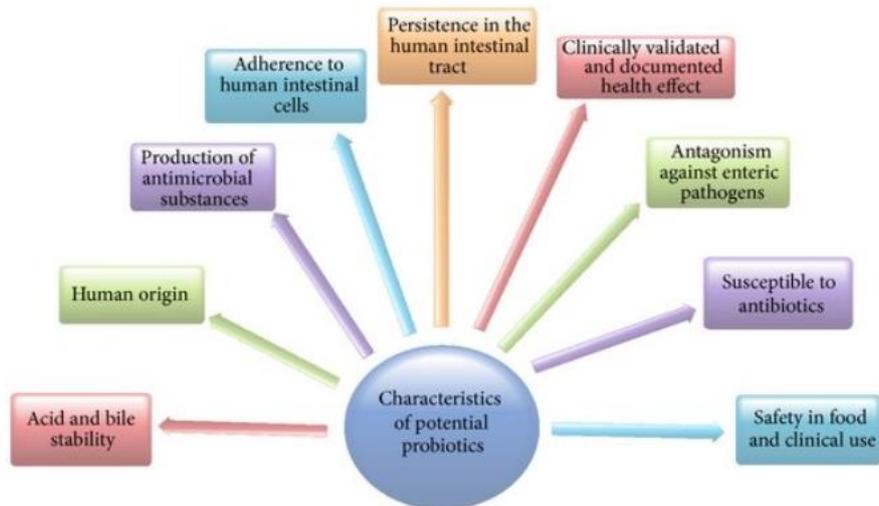


Figure 20 : Principales caractéristiques nécessaires à la sélection d'une souche probiotique. (96)

L'effet probiotique étant souche dépendant, la souche, comme pour les autres types de probiotiques, doit être parfaitement identifiée au niveau génotypique et phénotypique. Elle doit par ailleurs être stable au cours de sa fabrication et de sa conservation, aussi bien dans sa forme galénique que dans le corps humain lors de son administration. Elle doit pouvoir résister aux acides gastriques et aux acides biliaires, au stress physiologique ainsi qu'au pH acide du milieu vaginal. Elle doit par ailleurs présenter des propriétés d'adhésion afin d'assurer un contact maximum avec la muqueuse cible.

En outre, cette souche ne doit pas présenter de risques pour l'hôte et ne doit donc évidemment pas être pathogène en elle-même. Elle ne doit pas non plus être porteuse de gènes de résistance aux antibiotiques car ceux-ci sont potentiellement transmissibles à d'autres bactéries, elles-mêmes pathogènes.

Pour finir, les effets bénéfiques de cette souche doivent être prouvés par des études scientifiques chez l'hôte. (88)

Les probiotiques doivent être composés d'une quantité minimale de bactéries pour pouvoir atteindre leur cible. A titre d'exemple, les concentrations de probiotiques doivent généralement être supérieures ou égales à 10^6 UFC/mL dans l'intestin grêle et 10^8 UFC/g dans le côlon afin d'atteindre l'effet recherché. (89)

ii) Caractéristiques des probiotiques pris par voie orale

L'idée d'administrer des probiotiques par voie orale afin d'agir sur le microbiote vaginal est assez récente. En 2001, une étude par Reid *et al.* menée sur 10 femmes souffrant de vaginose bactérienne a prouvé que des souches de lactobacilles (*L.rhamnosus* et *L.fermentum*) administrées par voie orale étaient retrouvées dans le milieu vaginal après une administration biquotidienne de 14 jours. Toutes les femmes concernées présentaient ces lactobacilles dans leur microbiote vaginal dès 7 jours, et ce jusqu'à plusieurs mois après le début du traitement. (97)

En 2004, Morelli *et al.* ont tenté de répliquer cette étude (même nombre de participantes, mêmes souches et même durée d'utilisation) et ont obtenu des résultats très similaires. En revanche, la colonisation vaginale par ces lactobacilles semblait plutôt survenir lors de la 2ème semaine. La conclusion des auteurs de l'étude est que, par le fait qu'il s'agit de souches parfaitement capables de coloniser aussi bien le microbiote intestinal que le microbiote vaginal, un passage direct d'un microbiote à l'autre est possible. Ainsi, une condition spécifique aux probiotiques est non seulement leur capacité à résister au milieu intestinal, mais également à y adhérer et à s'y multiplier pour plus d'efficacité. (98)

L'idée d'administrer des probiotiques par voie orale afin de rétablir un microbiote vaginal. Elle provenait de la question "si les agents pathogènes urogénitaux peuvent le faire, pourquoi les lactobacilles ne le pourraient-ils pas?". Ce concept selon lequel les souches ingérées pourraient traverser l'intestin, atteindre le rectum puis le vagin a été confirmé indépendamment par d'autres études (99). En effet, L. Morelli *et al.*, ont évalué la capacité des lactobacilles isolés du vagin à survivre au transit gastro-intestinal et ont établi un lien entre le taux de survie intestinale et la colonisation vaginale (98). Cette étude a été réalisée avec 10 femmes déclarant être en bonne santé, sans antécédents d'infection uro-génitale au cours des 12 derniers mois, sans anomalie uro-génitale et ne prenant aucun médicament. Elles ont reçu au hasard soit une préparation de probiotiques lyophilisés contenant *L. rhamnosus* GR-1 et *L. fermentum* RC-14 (n=8), soit un placebo de lactose (n=2). Des prélèvements fécaux et des écouvillons vaginaux ont été prélevés le premier jour et après 7 et 14 jours.. La persistance des souches administrées a été évaluée par échantillonnage vaginal et prélèvement fécal après une semaine d'arrêt de prise des probiotiques ou placebo (soit au 21ème jour). Les résultats de cette étude ont montré que pendant la période de traitement, les échantillons fécaux présentaient une augmentation significative de lactobacilles et les prélèvements vaginaux ont montré une augmentation des lactobacilles chez les 8 mêmes sujets dont 6 avec une augmentation plus importante. Cette étude permet donc de montrer que les lactobacilles pris par voie orale peuvent arriver jusqu'au vagin.

Un autre avantage de la voie orale est la capacité des lactobacilles à réduire le transfert de levures et de bactéries pathogènes du rectum au vagin, ce qui pourrait potentiellement réduire le risque d'infections. (101) Les données d'une souche ne doivent pas être utilisées pour une autre souche non testée : chaque souche est différente, et deux souches d'une même espèce n'auront pas la même efficacité dans une indication donnée. L'échec de *L. rhamnosus* GG dans une étude réalisée par G. Reid *et al.*, prouve les aspects spécifiques d'une souche à une autre pour l'utilisation des probiotiques. (100)

- *Protection des probiotiques contre l'acidité gastrique*

Afin de protéger les probiotiques contre l'acidité gastrique, il est préférable qu'ils soient pris à jeun car le passage dans l'estomac en sera plus rapide.

Des systèmes galéniques de protection, tels que la microencapsulation ou l'enrobage, permettent désormais de protéger les probiotiques contre cette acidité. Une formulation de gélules à durée de conservation de 2 ans a été développée et utilisée avec succès pour maintenir une présence vaginale dominée par les lactobacilles à partir de la dose d'un milliard de bactéries par jour (100). Le délai pour arriver jusqu'au microbiote vaginal en prenant des probiotiques par voie orale est forcément plus long que la prise directe par la voie vaginale, et dépendra de la viabilité des souches lors de leur passage dans l'estomac et dans l'intestin. De plus, la charge de lactobacilles délivrable par voie orale est beaucoup plus faible que par la voie vaginale.

- *Etat de "mise en veille"*

Pour que les souches puissent agir, il est nécessaire qu'elles soient et restent en vie. Pour cela, il est possible d'induire certaines conditions afin de provoquer un état où la bactérie peut-être mise en "mode veille", tout en restant vivante.

L'état de mise en veille signifie qu'elles ne sont pas en phase de croissance, de reproduction ou d'activité métabolique. Elles attendent les bonnes conditions pour revenir à une vie métabolique complète. Ces conditions seront trouvées en atteignant l'intestin, où elles obtiendront une température adéquate, une disponibilité en nutriments, une acidité et une eau adaptées pour un découplage de l'activité métabolique.

Pour arriver à cet état de veille, il faut faire appel à un procédé technologique appelé lyophilisation. C'est un processus composé de 2 étapes où les cellules sont congelées rapidement à très basse température (-40°C à -70°C). L'eau congelée est éliminée par sublimation (évaporation à basse pression et basse température). Cela permet d'éliminer la majeure partie de l'eau autour et à l'intérieur des cellules afin de laisser les bactéries dans un état dormant. Cette mesure technologique va de 0 (absence d'eau) à 1 (eau pure). Les

produits alimentaires (laits fermentés, fromages) ont un score proche de 1, tandis que les compléments alimentaires à base de probiotiques ont un score proche de 0. Dans les produits alimentaires, la basse température et l'acidité permettent de maintenir la croissance bactérienne basse, dans un état dormant.

Dans les compléments alimentaires, le nombre de cellules viables est exprimé en Unités Formant Colonies (UFC)/ml, dont le nombre atteint souvent les milliards. Afin de pouvoir estimer précisément le nombre de micro-organismes présents dans la préparation probiotique, les microbiologistes ou fabricants effectuent des dénombrements sur des milieux de culture favorables à la croissance de ces souches. (102)

iii) Les caractéristiques des probiotiques administrés par voie vaginale

L'environnement vaginal est très différent du milieu intestinal et exerce une pression de sélection spécifique. Ainsi, il est logique que les souches probiotiques traditionnellement utilisées pour réguler le microbiote intestinal ne soient pas toujours efficaces pour lutter contre les dysbioses vaginales.

Dans une étude réalisée en 2000 par Reid *et al.*, il a été montré que *L.acidophilus* (un lactobacille utilisé dans le cadre des dysbioses intestinales) possédait des propriétés d'adhésion à la muqueuse vaginale et d'inhibition de micro-organismes uropathogènes plus faibles que des lactobacilles naturellement présents parmi le microbiote vaginal tels que *L.rhamnosus* ou *L.fermentum*. (103)

Ainsi, chaque biotope effectue une pression de sélection, et un crible de sélection spécifique au milieu vaginal est nécessaire. Néanmoins, les critères fonctionnels appliqués au niveau vaginal sont moins exigeants qu'au niveau intestinal, ces probiotiques ne doivent résister qu'au pH acide de l'écosystème vaginal et n'ont pas à traverser le tractus digestif pour atteindre leur site d'action.

Les probiotiques administrés par voie vaginale doivent présenter certaines caractéristiques nécessaires à leur sécurité. Les souches utilisées doivent avoir été isolées du vagin d'une femme saine, et ne doivent pas avoir d'historique de pathogénicité. Elles ne doivent pas non plus pouvoir transmettre des gènes de résistance aux antibiotiques à d'autres bactéries pathogènes, ni être capables de dégrader excessivement le mucus.

Concernant les critères fonctionnels, la souche doit pouvoir adhérer aux cellules vaginales et persister dans le vagin. Comme vu précédemment dans la thèse, elle devra également produire une substance antimicrobienne telle que le peroxyde d'hydrogène, ou encore des substances antagonistes vis-à-vis des pathogènes.

Enfin, la souche doit rester stable pendant la fabrication et conserver des propriétés probiotiques après sa production. De plus, le probiotique doit pouvoir relarguer rapidement ses souches en dehors de la matrice après introduction dans le vagin. (104) (105) (106)

Les formes galéniques traditionnelles ont montré une faible adhésion dans le vagin et une sensation de gêne. Les stratégies de formulation ont permis d'améliorer ces formes galéniques: augmentation de la solubilité des crèmes dans le vagin, fabrication d'applicateurs plus adaptés à l'anatomie du vagin, mais également développement de bioadhésifs, de systèmes de thermogélification... Ces formes doivent maintenir une faible teneur en humidité afin que ces bactéries restent dans un état dormant. (107)

B) Etude des effets des souches principales

Avant toute chose, il convient de rappeler que les effets d'un probiotique ne peuvent être attribués à un genre (ex: *Lactobacillus*) ou à une espèce (ex: *Lactobacillus gasseri*). Le terme "probiotique" ne peut être attribué qu'à une souche précise, dans une indication particulière. Ainsi, toutes les souches de *Lactobacillus crispatus* ne peuvent être considérées comme probiotiques. En effet, bien qu'appartenant souvent à la même famille, différentes souches peuvent se comporter de manière très différente dans le microbiote vaginal et interagir différemment avec les autres micro-organismes. (figure 21)

Ces subtilités, associées bien souvent à un statut de complément alimentaire ne demandant pas de preuves cliniques, rendent d'autant plus complexe la recherche des patientes. Elles renforcent les responsabilités du pharmacien, qui doit connaître les gammes de produits vendus et se renseigner au-delà des discours commerciaux de certaines entreprises pharmaceutiques.

Ainsi, les paragraphes suivants de cette thèse ont pour but de familiariser le lecteur à différentes familles de lactobacilles couramment utilisées, mais ne doivent pas être considérés à eux seuls comme un guide dans le choix d'un produit. Seule la revue des preuves scientifiques, éventuellement fournies par l'industriel, peut prétendre à cet effet.

1) *Lactobacillus crispatus*

PRINCIPAUX MICRO-ORGANISMES PROBIOTIQUES

Nomenclature :

Genre **espèce** **désignation de la souche**
Ex: *Lactobacillus rhamnosus* GG

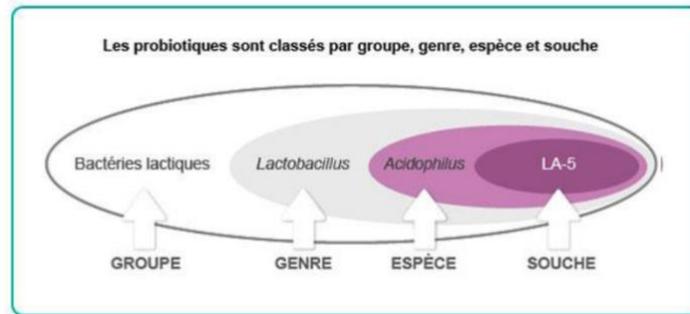


Figure 21: Schéma représentant la nomenclature d'un lactobacille (ED de Mr le Professeur Foligné)

Lactobacillus crispatus est considéré comme un marqueur de la bonne santé vaginale. Comme vu précédemment dans la thèse, il s'agit d'une souche productrice de peroxyde d'hydrogène, très présente parmi le microbiote vaginal des femmes en bonne santé mais souvent absente chez les femmes souffrant d'une vaginose bactérienne.

L'efficacité de plusieurs souches de *L.crispatus* dans la prévention des vaginoses bactériennes a été attestée par différentes études.

En 2020, une étude de phase 2b par Cohen *et al.* a été mise en place pour démontrer l'efficacité de Lactin-V (*Lactobacillus crispatus* CTV-05) contre la récurrence des vaginoses bactériennes après 5 jours de traitement par un antibiotique, le métronidazole. 228 patientes se sont administrées des capsules vaginales de Lactin-V (n=152) ou de placebo (n=76) durant 11 semaines. Après 12 semaines, des récurrences de vaginoses bactériennes étaient survenues chez 46 des 152 patientes traitées par Lactin-V, contre 34 des 76 patientes traitées par placebo (soit 30% contre 45%, p-value=0.01). Après 24 semaines (soit 12 semaines après l'arrêt du traitement), le taux de récurrences était de 39% contre 54%.(108)

Une autre étude par Bohbot *et al.* a obtenu des résultats similaires parmi 78 femmes traitées par *L.crispatus* (n=39) ou par placebo (n=39) après 7 jours de traitement par métronidazole pour une vaginose bactérienne. Dans le groupe placebo, 16/39 patientes (41%) avaient au moins une récurrence, contre 8/39 patientes (20.5%) dans le groupe *L.crispatus* (p=0.0497).

Une expérimentation *in vitro* par Shuai Wang *et al.* montre également une inhibition par 88% de la formation d'hyphes (forme filamenteuse et virulente du champignon) par les levures de *Candida albicans* lors de l'exposition à *L.crispatus*. La raison probable est la production par ce lactobacille de peroxyde d'hydrogène, efficace contre la prolifération de *Candida albicans*.

2) *Lactobacillus gasseri*

L'espèce *Lactobacillus gasseri* est un micro-organisme autochtone dont l'activité probiotique a été évaluée sur la base de son adaptation spécifique à la muqueuse humaine. Une étude de Kurt Selle *et al.*, a permis de synthétiser les principales caractéristiques de cette espèce. On y trouve notamment sa tolérance aux environnements à pH acide, sa résistance aux sels biliaires et son adhérence à l'épithélium de son hôte. Chez l'Homme, elle possède une activité anti-microbienne, elle est capable de produire des bactériocines et elle pourrait avoir une activité d'immunomodulation des systèmes innés et adaptatifs. (12)

Par ailleurs, une étude *in vitro* par Al Kassaa *et al.* a démontré que la souche *L.gasseri* CMUL57 possède une activité d'inhibition du virus de l'Herpes simplex 2 (VHS-2, responsable de l'herpès génital) supérieure à d'autres lactobacilles (*L.acidophilus*, *L.plantarum*). L'intubation de cette souche en présence du VHS-2 a augmenté la viabilité des cellules infectées par celui-ci de 65% (contre 35% et 15% pour les autres souches). De plus, le nombre de particules virales actives était significativement diminué après 48h d'incubation en présence de cette souche de *L.gasseri* (15.000, contre 100.000 en l'absence de *L.gasseri*, $p=0.01$). La figure ci-dessous montre la réduction du nombre de particules virales après co-incubation avec *L.gasseri* (CUMUL57), *L.acidophilus* (CUMUL67) et *L.plantarum* (CUMUL140), en comparaison au groupe contrôle (medium). Les résultats ont été exprimés en log TCID50/ml. (figure 22) (109).

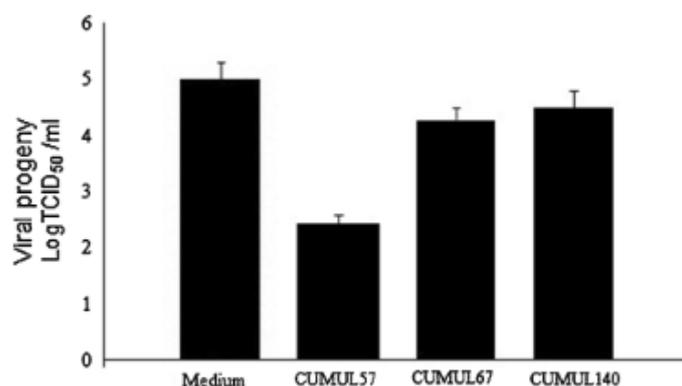


Figure 22: Réduction du nombre de particules de VHS-2 actives après co-intubation avec trois souches de lactobacilles (109)

3) *Lactobacillus rhamnosus*

Une étude faite par Mette Rose Jørgensen *et al.* en octobre 2020 a permis d'évaluer l'activité antifongique de 14 souches de *Lactobacillus* d'origine humaine, face à six espèces opportunistes de la famille de *Candida* (*C.albicans* et non *albicans*). Pour cela, un test d'inhibition de croissance sur gélose a été utilisé pour évaluer leur activité antifongique. La capacité de production d'acide a été mesurée par des micro-capteurs de pH .

Les 14 candidats *Lactobacillus* ont inhibé la croissance de *Candida Spp.* Parmi celles-ci, les 4 souches les plus performantes étaient :

- *L. rhamnosus* DSM 32992 (voie orale),
- *L. rhamnosus* DSM 32991 (voie orale),
- *L. jensenii* 22B42 (voie vaginale)
- *L. rhamnosus* PB01 (voie vaginale).

La différence d'inhibition entre *L. rhamnosus* DSM 32992 et toutes les autres souches était statistiquement significative ($p < 0,001$). Toutes les souches de *Candida* n'étaient cependant pas aussi sensibles à l'activité des lactobacilles. *C.albicans* et *C. parapsilosis* voyaient leur prolifération fortement réduite, tandis que *C. krusei* et *C.glabrata* n'étaient pas ou légèrement inhibés. Les souches orales de *L. rhamnosus* DSM 32992 et DSM 32991 ayant provoqué les plus fortes baisses de pH parmi les milieux de culture, il semblerait que l'inhibition de la prolifération de *Candida spp* soit en partie provoquée par cette baisse de pH. (110)

4) *Lactobacillus plantarum*

Une étude réalisée par Palais S *et al.*, a permis d'évaluer l'impact de l'utilisation de la souche *Lactobacillus plantarum* I1001 sur la fréquence des récurrences de vulvo-vaginites à *Candida*. Dans cette étude, la souche était administrée par voie vaginale jusqu'à la récurrence de la candidose, après traitement par une dose unique de clotrimazole vaginal. L'étude comprenait 55 femmes sexuellement actives âgées de 18 à 50 ans, à qui on avait prescrit un comprimé vaginal standard à dose unique de 500 mg de clotrimazole. 33 d'entre elles ont ensuite été traitées par des comprimés vaginaux de *L.plantarum* I1001 comme traitement adjuvant et en prévention des récurrences. L'utilisation de ces probiotiques était associée à une forte diminution du nombre de récurrences (OR: 0,30 [0,10-0,91] ; P = 0,033). L'étude suggère donc qu'un traitement de suivi incluant des comprimés vaginaux de *Lactobacillus plantarum* I1001 permettrait de diminuer efficacement le risque de récurrence de candidose vulvo-vaginale chez les femmes concernées. (111)

5) *Lactobacillus casei*

La souche de *Lactobacillus casei* Lcr 35 est présente dans Gynophilus®, un probiotique destiné à la voie vaginale. Une étude réalisée par A.M. Kern *et al.* a permis de démontrer l'efficacité de cette souche dans la prévention des récurrences de la candidose vulvovaginale. La posologie recommandée était de 2 gélules vaginales dosées à 10^8 UFC par jour pendant 7 jours puis une gélule par jour pendant 14 jours. Cette étude a regroupé 514 patientes souffrant de nombreuses récurrences de candidoses vaginales ($5,4 \pm 2,2$ récurrences par an), suivies par 121 gynécologues libéraux.

43.4 % des femmes traitées, contre 71.1 % des femmes non traitées ($p < 0.0001$) ont souffert d'une récurrence de candidose dans les 6 mois suivant le traitement. De plus, les symptômes lors de la récurrence semblaient atténués chez les femmes traitées: les gynécologues participant à l'étude ont constaté une nette amélioration chez 73.6% des femmes traitées, contre 40.4% des femmes non traitées ($p < 0.0001$). (figure 23) Les auteurs en concluent que l'utilisation de certaines souches probiotiques pourrait diminuer l'utilisation des antifongiques, parfois responsables d'effets indésirables tels que la vaginose bactérienne. Les lactobacilles, quant à eux, permettraient d'inhiber la croissance de la levure mais aussi son adhésion à l'épithélium vaginal. (112)

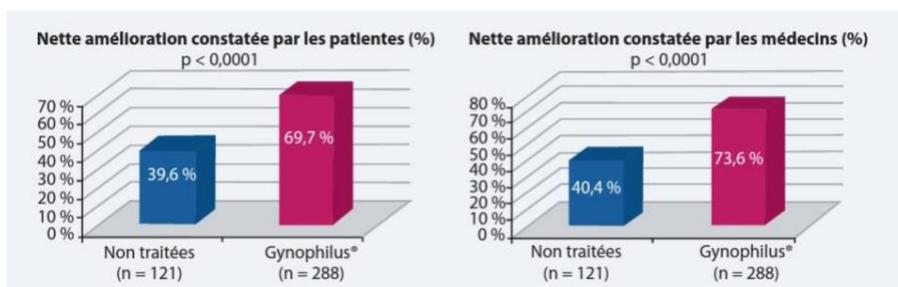


Figure 23 : Appréciation globale de l'évolution de la candidose vulvovaginale récidivante : pourcentage de patientes et de médecin ayant constaté une nette amélioration. (112)

La capacité de cette espèce à s'implanter dans l'épithélium vaginal sur le long terme a également été démontrée par Coudeyras *et al.* Ceux-ci ont prouvé que des souches de *L.casei* possédaient une capacité d'inhibition de la croissance de germes pathogènes responsables de mycoses à *Candida albicans*, et de vaginoses bactériennes notamment provoquées par *Gardnerella vaginalis* et *Prevotella bivia* (113)

Cette souche a également une capacité d'acidification du pH vaginal, à tel point que les valeurs de celui-ci reviennent à un niveau similaire à celle d'un microbiote vaginal sain, riche en lactobacilles endogènes.

Il a pu également être démontré que cette même souche avait un effet bénéfique dans la restauration du microbiote vaginal après un traitement antibiotique d'une vaginose bactérienne. (114) Le taux de récurrence de vaginose bactérienne après quelques mois peut être élevé, du fait que les agents infectieux responsables sont susceptibles de former un biofilm sur lesquels les antibiotiques ont une action minime. Dans ce cas, seuls certains lactobacilles tels que *L. reuteri*, *L. iners* et *L. crispatus* sont capables d'altérer ce biofilm et de réduire le risque de récurrence. (1)

C) Les différentes indications

1) Vaginose bactérienne

L'une des indications parmi les plus documentées des probiotiques est le traitement des vaginoses bactériennes. Les lactobacilles ont un rôle direct dans le maintien d'un microbiote bactérien sain et concurrencent activement les bactéries pathogènes. L'apport de lactobacilles par voie orale doit donc participer au rééquilibrage du microbiote.

Une méta-analyse de 2019 par Ziyue Wang *et al.* a permis de démontrer la supériorité des probiotiques face au placebo dans le traitement et la prévention des récurrences des

vaginoses bactériennes, en association ou non à un traitement antibiotique. L'intérêt de l'association des probiotiques au traitement antibiotique est ici justifié par le fait que les antibiotiques utilisés dans le traitement des vaginoses bactériennes (notamment le métronidazole) sont susceptibles d'également attaquer les lactobacilles vaginaux et de déséquilibrer le microbiote sur le long terme.

Dans cette méta-analyse, les traitements par probiotiques seuls étaient beaucoup plus efficaces après 30 jours en comparaison au placebo seul (RR=2.57, IC: 1.96 à 3.37, $p < 0.00001$). Les effets des probiotiques 8 semaines après le traitement étaient toujours perceptibles, dans une moindre mesure (RR=1.58, IR= 1.24 à 2.01).

L'efficacité des probiotiques en prévention des récurrences de vaginoses bactériennes après traitement par antibiotique (métronidazole ou clindamycine) a également été étudiée dans cette méta-analyse. Une tendance claire se dégage : les probiotiques sont efficaces, mais uniquement lorsque le dosage par capsule est suffisamment élevé. En effet, dans le cas de capsules composées de plus de 10^9 UFC (soit 1 milliard) par capsule, l'efficacité des probiotiques en prévention des récurrences était importante (RR=1.72, $p < 0.002$) tandis que l'efficacité était nulle dans les souches dosées à moins de 10^8 UFC. (115)

2) Mycose vaginale

Les mycoses sont les affections vaginales les plus fréquentes après les vaginoses bactériennes. Elles sont le plus souvent provoquées par *Candida albicans*, une levure naturellement présente de manière asymptomatique dans le microbiote vaginal de 30% des femmes, et se manifestent par des démangeaisons vaginales et vulvaires ainsi que par des pertes blanches caractéristiques. Les traitements antifongiques traditionnels ont un taux d'efficacité élevé à court terme mais ne peuvent traiter les causes de la prolifération. En revanche, les lactobacilles sont capables d'inhiber l'adhésion des micro-organismes pathogènes tels que *Candida albicans* à l'épithélium vaginal. Ainsi, un microbiote déséquilibré pauvre en lactobacilles serait moins à même de limiter la prolifération de *Candida*.

Dans une méta-analyse de 2017 incluant 10 études pour un total de 1656 patientes suivies, Huan Yu Xie *et al.* ont cherché à déterminer l'efficacité de souches probiotiques (en majorité composées de lactobacilles tels que *L.rhamnosus* ou *L.acidophilus*) en association à des traitements antifongiques classiques (clotrimazole, miconazole, fluconazole) dans le traitement et la prévention des récurrences de mycoses vaginales. Il s'avère que l'utilisation des probiotiques permettait une légère élévation du taux de guérison (RR = 1.14, IC95% = 1.05 à 1.24) par rapport au placebo lorsqu'il était associé à un antifongique. Surtout, le risque de

récidives à un mois était 3 fois plus faible lorsqu'un probiotique était utilisé conjointement au traitement antifongique (RR = 0.34, IC95% = 0.17 à 0.68).

Ces résultats confirment la légitimité des probiotiques dans la prise en charge des vulvovaginites à *Candida* en complément des antifongiques. Comme dans le cas des vaginoses bactériennes, ils semblent particulièrement efficaces dans la prévention de la récurrence ou de la survenue des mycoses, bien qu'une légère efficacité en tant que traitement curatif (en association aux traitements antifongiques classiques) ait également été observée. (116)

3) Cystite

Les cystites sont des infections urinaires localisées au niveau de la vessie. Elles se manifestent par des douleurs et des brûlures à la miction, et parfois par une légère fièvre ou par la présence de sang dans les urines. Ces infections (le plus souvent provoquées par la bactérie *Escherichia coli*) doivent être prises en charge par des antibiotiques, disponibles sur prescription médicale. Ces antibiotiques ont une bonne efficacité, mais les récurrences sont fréquentes. On parle de cystites récurrentes à partir de 4 infections urinaires par an. La récurrence de ces survenues peut être évitée en respectant les règles hygiéno-diététiques adaptées, mais celles-ci ne sont pas toujours suffisantes.

Une méta-analyse par Grin *et al.* a été réalisée afin de déterminer l'efficacité de souches de lactobacilles dans la prévention des récurrences d'infections urinaires. Il s'avère que les risques de récurrences chez des femmes ayant subi au moins une cystite au cours des 12 derniers mois semblent diminuer après l'administration de probiotiques par voie vaginale (RR=0.51, p=0.05). Cependant, les études portant sur le sujet sont peu nombreuses et, malgré des résultats prometteurs, des recherches supplémentaires sont toujours nécessaires pour attester de l'efficacité des probiotiques dans cette indication. Pour le moment, il n'est pas possible d'affirmer que les probiotiques ont une efficacité dans la prévention des cystites récurrentes (117).

6) En cas de sécheresse vaginale :

L'hormonothérapie est fréquemment prescrite afin de combler les déficits en oestrogènes à la ménopause. Les isoflavones (notamment contenues dans le soja) possèdent des propriétés "pseudo-oestrogéniques", susceptibles de soulager certains symptômes tels que la sécheresse vaginale.

Une étude de Ana Elisa Ribeiro *et al.* a comparé l'efficacité de l'hormonothérapie à des isoflavones (seules et en association à des probiotiques) pour soulager les symptômes de la ménopause. (118) Cette étude fut menée sur 60 femmes ménopausées âgées de 40 à 60 ans, qui ont reçu par voie orale des isoflavones seules, en association à des probiotiques (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*) ou une hormonothérapie.

Pour le groupe de femmes ayant reçu des isoflavones plus des probiotiques, une constatation est faite : après 16 semaines, il y a une augmentation significative de la teneur en molécules pseudo-oestrogéniques telles que la daidzéine ($p < 0.001$) ou la glycitéine ($p = 0.009$). Dans le groupe isoflavones seules, l'augmentation de la présence de ces molécules est en revanche bien plus faible et non significative. Ainsi, les probiotiques permettraient de multiplier la présence de ces molécules et l'efficacité des isoflavones. En effet, l'efficacité des isoflavones était supérieure dans la résolution des problèmes urogénitaux (problèmes sexuels, sécheresses vaginales) lorsqu'elles étaient associées aux probiotiques ($p = 0.06$ vs $p = 0.44$).

Le faible nombre de participantes limite néanmoins l'interprétation des résultats, et l'hormonothérapie a démontré une efficacité supérieure dans la résolution des troubles urogénitaux, y compris lorsque les isoflavones étaient associées aux probiotiques. Il est cependant à noter qu'aucun effet indésirable n'a pu être mis en évidence dans les groupes isoflavones (associées ou non à des probiotiques), contrairement au groupe hormonothérapie (douleurs au sein, saignements vaginaux).

D) Les probiotiques pris par voie orale

1) Avantages de la voie orale

La prise des probiotiques par voie orale est la voie la plus pratique et la plus accessible pour toutes les femme. En effet, il suffit d'un verre d'eau pour pouvoir le prendre. Elle est la voie la moins contraignante. La prise par voie orale permet de diminuer la transmission de pathogènes du rectum au vagin. (100) (101)

2) Exemples de spécialités de probiotiques oraux vendus en officine

Nom commercial	Souche	Effets avancés	Posologie	Illustration
Ergyphilus intima® (Nutergia)	<i>L. acidophilus</i> DSM 21717, <i>L. gasseri</i> LMG 26661, <i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103, <i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 22892, <i>L. fermentum</i> CECT 5716, 5 souches dosées à 6 milliards par gélule.	Peut être utilisé pour : - Les vaginoses, vaginites et vulvites. - Les infections urinaires en traitement comme en prévention. - Les candidoses génitales et la prévention de leur récurrences. - Chez les femmes enceintes avec des antécédents de candidoses ou de gênes urinaires à répétition. - Les préventions de mastites pendant l'allaitement.	Prendre 2 à 4 gélules par jour, de préférence le matin. Les gélules peuvent être ouvertes si nécessaire En cas de vaginite ou de gêne urinaire durant un traitement par antibiotiques, prendre 4 gélules pendant le traitement puis 2 jusqu'à la fin de la boîte. Pour les candidoses : - en prévention prendre 1 à 2 gélules par jour. - en curatif prendre 4 gélules par jour pendant 7 jours puis 2 gélules par jour. En prévention des mastites, prendre 2 gélules par jour. A conserver au frais, à +4°C.	
Fémibion intime® (Merck)	<i>L. rhamnosus</i> GR-1 <i>L. reuteri</i> RC-14 10 ⁹ UFC/gélule	Traite et prévient les déséquilibres du microbiote vaginal.	Cure d'attaque (après une période d'inconfort) : 2 gélules par jour pendant 14 à 28 jours. Cure d'entretien	

			(préventif) : 1 gélule par jour pendant 28 jours. 2 à 3 cures par an si besoin.	
Orogyn® (CDD)	<i>L. rhamnosus</i> , Lacidofil® (<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Rosell-11 et <i>Lactobacillus helveticus</i> Rosell-52), <i>Lactobacillus helveticus</i> Lafti L10, <i>Lactobacillus brevis</i> HA-112 : 2 x 10 ⁹ UFC/gélule	Il contribue à rééquilibrer la flore vaginale perturbée (grossesse, ménopause, antibiotiques, tampon périodique...) et permet de limiter la survenue de désagréments uro-génitaux.	Cure d'attaque : 2 gélules par jour pendant 15 jours. Cure d'entretien : 1 gélule par jour pendant 28 jours. Renouveler plusieurs fois dans l'année si nécessaire.	
MediGYNE voie orale ® (Iprad)	<i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> : 6 milliards UFC pour 2 gélules	Il contribue au maintien des muqueuses normales.	En cas de besoin, prendre 2 gélules par jour pendant 7 jours. En entretien, prendre 1 gélule par jour pendant 14 jours. A avaler avec un verre d'eau avant le repas	
Lactibiane Candisis : Cnd 10 M ® (Pileje)	<i>L. helveticus</i> LA401 <i>candisis</i> et <i>Lactobacillus gasseri</i> LA806 10 x 10 ⁹ par gélule	Prévention des mycoses vaginales et intestinales récidivantes.	Prendre 1 à 2 gélules par jour avec un grand verre d'eau, de préférence avant un repas.	

Tableau 6 : Spécialités probiotiques par voie orale vendues en officine (liste non exhaustive).

3) Les conseils associés

Il est conseillé de prendre les probiotiques par voie orale à jeun.

En effet, la prise à jeun permet un passage rapide dans l'estomac (et évite sa stagnation) et permet la protection des bactéries par le pouvoir tampon de l'aliment vecteur ou par les systèmes galéniques de protection. Ces systèmes peuvent être l'encapsulation ou l'enrobage pour protéger contre l'acidité gastrique.

E) Les probiotiques pris par voie vaginale

1) Avantages et inconvénients de la voie vaginale

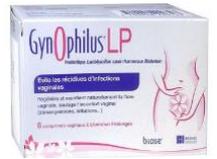
Les probiotiques par voie vaginale ont l'avantage de pouvoir agir directement au niveau du site d'action, et permettent un meilleur contrôle du taux de lactobacilles. Ils doivent avoir un dosage minimum de 10^8 lactobacilles par comprimé ou gélule.

Cette forme galénique présente cependant quelques inconvénients. Tout d'abord, il n'est pas recommandé de les utiliser pendant les règles car le sang risque de diluer les probiotiques et de diminuer l'efficacité. Par ailleurs, certaines femmes ne sont pas à l'aise pour s'insérer un comprimé ou une gélule dans le fond du vagin. Enfin, l'application doit préférentiellement être faite au coucher, ce qui peut être contraignant.

2) Exemples de spécialités de probiotiques vaginaux vendus en officine

Nom commercial	Souche	Effets avancés	Posologie	Illustration
Physioflor® (Iprad)	<i>L. crispatus</i> 10^8 UFC par gélule et 10^9 par comprimé LP: renforce la production de H_2O_2	Soulage rapidement l'inconfort vaginal. Restaure et stabilise la flore vaginale.	1 gélule par jour pendant 7 jours ou 1 comprimé vaginal à renouveler 4 jours après. En cas de grossesse,	

		Limite les récurrences d'infections vulvovaginales	<p>consulter un médecin avant l'utilisation.</p> <p>Peut-être utilisé pendant l'allaitement.</p>	
Medigyne® (Iprad)	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. gasseri</i> 10 ⁸ par gélule	<p>Rétablit et maintient l'équilibre de la flore vaginale.</p> <p>Soulage les démangeaisons ou les pertes inhabituelles.</p> <p>Rééquilibre le pH physiologique vaginal en prévention des déséquilibres de la flore vaginale ou en complément d'un traitement.</p> <p>Atténue les mauvaises odeurs.</p>	<p>1 gélule le soir au coucher pendant 8 à 10 jours.</p> <p>Ne doit pas être utilisé pendant les règles.</p> <p>En cas de grossesse ou de projet de grossesse, demander conseil à un médecin.</p> <p>Peut être utilisé pendant l'allaitement.</p>	
Feminabiane flore vaginale® (Pileje)	<i>L. plantarum</i> LA901 10 ⁸ par gélule	Restaura la flore vaginale, améliore le taux de guérison des infections vulvovaginales et réduit les risques de récurrences.	<p>Appliquer les 7 comprimés à raison de 1 comprimé un jour sur deux en dehors des règles, dès le début du traitement antibiotique. Répéter le protocole 14 jours par mois pendant 3 mois en cas de récurrences.</p> <p>Contient un applicateur pour aider à l'insertion.</p>	

<p>HydralinFlora® (Bayer)</p>	<p><i>Lactobacillus plantarum</i> <i>P17630</i> 10⁸ UFC par capsule</p>	<p>Aide à prévenir les infections vaginales à répétition</p>	<p>Pour restaurer la flore intime, utilisez 1 capsule Hydralin Flora® par jour pendant 6 jours consécutifs.</p> <p>Puis pour prévenir des récurrences, utilisez 1 capsule par semaine pendant 4 semaines</p>	
<p>Gynophilus LP® (Besins)</p>	<p><i>Lactobacillus casei rhamnosus Döderlein</i> et des prébiotiques (éléments nutritifs)</p>	<p>Il soulage l'inconfort vaginal (démangeaison, irritations...), réduit les pertes vaginales et limite les récurrences</p>	<p>Pour régénérer la flore vaginale, 1 comprimé tous les quatre jours. Gynophilus LP peut s'utiliser en relais d'un traitement local antifongique ou antibiotique, ou en même temps qu'un traitement oral (généralement antibiotique)</p>	
<p>Florgynal tampon® (Iprad)</p>	<p><i>L. rhamnosus</i>, <i>L. gasseri</i> et <i>L. fermentum</i></p>	<p>Rééquilibre la flore vaginale et absorbe les flux menstruels</p>	<p>Il s'utilise comme un tampon périodique pendant la période des règles, sur une durée allant de 3 à 6 cycles suivant les cas.</p> <p>Utiliser au minimum 3 tampons par jour pendant 3 jours des règles</p>	

<p>Florgynal® (Galien)</p> <p>→ <u>Médicament de la liste I.</u></p>	<p>Par gélule: 341mg de <i>L. casei</i> 0,2 mg estriol 2 mg de progestérone</p>	<p>Association de probiotiques et d'oestrogènes.</p> <p>Destiné à restaurer la flore en cas de symptômes d'atrophie vaginale due à une carence hormonale ou en soins pré- et post-opératoires en chirurgie gynécologique</p>	<p>1 gélule matin et soir pendant trois semaines puis 1 gélule par jour.</p> <p>La durée du traitement est variable et est déterminée en fonction des signes cliniques par un médecin clinique Un frottis cervico-vaginal et un bilan lipido-glucidique sont nécessaires.</p>	
<p>Florgynelle crème® (Iprad)</p>	<p><i>L. fermentum</i>, <i>L. rhamnosus</i> et <i>L. gasseri</i></p>	<p>Protège et respecte l'équilibre de la flore vulvaire.</p> <p>Maintient le film hydrolipidique protecteur.</p> <p>Limite l'apparition des signes d'inconfort intime</p>	<p>Sur un doigt propre et sec, appliquez une noisette de la crème protection Florgynelle et continuez l'application sur la peau de la zone intime externe.</p> <p>L'opération peut être renouvelée jusqu'à 2 fois par jour</p>	

Tableau 7 : Spécialités probiotiques par voie vaginale vendues en officine (liste non exhaustive).

3) Les conseils associés

Les probiotiques ne doivent pas se substituer à un traitement médicamenteux mais peuvent accompagner un traitement. Ces compléments alimentaires (ou dispositifs médicaux) sont réservés à l'adulte. L'utilisation chez la femme enceinte doit être discutée avec le médecin traitant ou le gynécologue.

Ils doivent être insérés au coucher en position allongée et s'appliquent dans le fond du vagin. Il est nécessaire de se laver les mains avant et après application. Après l'application, il faut rester allongé pour éviter la perte du probiotique sous l'effet de la gravité. Il y a un risque de perte/écoulement le lendemain, ce qui est tout à fait normal.

Il est préférable d'éviter d'appliquer un probiotique pendant les règles, car le sang peut diluer les probiotiques et ainsi diminuer son efficacité.

Même si certains peuvent avoir une forme galénique ressemblant à une forme par voie orale (le mediGYNE possède par exemple une forme de gélules), ils ne sont pas à avaler.

Il n'est pas nécessaire de les conserver au froid, mais il est recommandé de les laisser dans un endroit frais et sec, à une température inférieure à 25°C et à l'abri de la portée des enfants.

Si les symptômes persistent, il convient de contacter un médecin. L'utilisation du produit doit être suspendue en cas de gênes ou d'irritations dans la zone vaginale.

Les règles hygiéniques de base (posséder un gel nettoyant spécifique, ne pas utiliser de gants de toilette, ne pas faire de douches vaginales, uriner sans se retenir et particulièrement après les rapports sexuels) continuent de s'appliquer lors de l'utilisation des probiotiques.

Une vigilance concernant l'utilisation du préservatif ou spermicide ou diaphragme en latex après application des probiotiques.

F) Limite des probiotiques

Les bactéries utilisées comme probiotiques sont généralement considérés comme inoffensifs grâce à leur utilisation depuis des années. La majorité des souches probiotiques appartiennent aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, classés dans la catégorie des organismes sans pathogénicité (statut GRAS : Generally regarded as safe). (88)

Cependant, dans des cas particuliers, les probiotiques peuvent provoquer certains effets indésirables et il existe donc quelques contre-indications connues. Il existe quatre types d'effets indésirables susceptibles de survenir: les infections, les activités métaboliques délétères, une immunostimulation excessive et un transfert de gènes de résistance aux antibiotiques vers les micro-organismes du microbiote commensal. (88)

Les probiotiques n'étant pas sélectionnés parmi les micro-organismes pathogènes, le risque d'infection est par définition relativement bas. Les rares cas d'infections (locales ou systémiques) sont survenus chez des patients présentant des facteurs de risques tels que des anomalies valvulaires (pour les cas d'endocardite) ou par la présence de cathéter. Par

ailleurs, les données concernant les risques des probiotiques chez ces patients restent encore insuffisantes. (89)

Chez certains sujets, l'administration de souches probiotiques en quantité trop importante pourrait donner des diarrhées et des lésions intestinales.

Concernant les effets indésirables immunologiques, un seul a pu être observé chez l'homme. Chez un patient, une ingestion d'une très grande quantité de yaourts aurait aggravé une hépatite auto-immune.

Malgré le fait que les effets à long terme d'une supplémentation en probiotiques ne soient pas documentés, il est important de prendre en compte les précautions d'emplois ainsi que les contre-indications. (89)

En pratique, certaines situations physiopathologiques nécessitent un avis médical. Cet avis est nécessaire pour les personnes ayant un déficit immunitaire (Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), lymphome, leucémies..), pour les personnes atteintes d'une immunodépression iatrogène (corticothérapie, chimiothérapie, radiothérapie) et pour les personnes souffrant de fièvre, nausées, vomissements, diarrhées sanglantes ou douleurs abdominales de cause inconnue. (89)

L'Agence européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA) a établi une liste (réactualisée chaque année) des compléments alimentaires pour lesquels les connaissances disponibles permettent d'établir qu'ils sont inoffensifs, et ne nécessitent donc pas d'évaluation plus approfondie. Cette liste, appelée liste QPS (pour « qualified presumption of safety »), regroupe donc les micro-organismes ne représentant généralement aucun danger pour l'homme ou son environnement. La majorité des probiotiques sont inclus dans cette liste.

Pour conclure, l'utilisation des probiotiques chez des personnes en bonne santé ne paraît pas poser de problèmes. L'utilisation des probiotiques aux cours de la grossesse et de l'allaitement semble également sans danger, car leur passage systémique (et donc transplacentaire ou transmammary) après ingestion est très rare. Cependant, il reste important pour ces femmes de demander l'avis du médecin traitant ou du gynécologue avant toute utilisation. (119)

G) Le conseil pharmaceutique : exemples de cas de comptoir

CAS DE COMPTOIR N°1 :

Une femme d'environ 50 ans vient à l'officine. Elle explique être ménopausée depuis 1 an, et souffre d'"inconforts" dans sa vie de tous les jours. Vous comprenez qu'elle souffre de sécheresses vaginales. Celles-ci impactent sa vie de tous les jours: sa vie sexuelle s'en trouve handicapée, et les démangeaisons dont elle souffre durant la journée impactent son moral et sa qualité de vie. Elle est inquiète car elle ne comprend pas pourquoi la ménopause lui provoque cet effet. Elle vient à la pharmacie à la recherche d'un traitement.

Voici des exemples de questions pouvant lui être posées :

- La sécheresse s'accompagne-t'elle de pertes vaginales ? Si oui, de quelle couleur sont-elles ? Sont-elles malodorantes ?
- Quelle est la date d'apparition des démangeaisons ?
- Y a-t-il eu un changement dans ses habitudes de vie ? Ou un changement de sa routine d'hygiène ?
- La patiente a-t'elle déjà consulté son médecin ou son gynécologue à ce sujet ?

Cette femme vous répond qu'elle n'a pas changé ses habitudes de vie, qu'elle n'a pas de pertes vaginales. Elle n'a pas encore consulté son médecin pour cette problématique.

Au vu de ce cas, on peut tout d'abord conseiller à la patiente de consulter son médecin, qui pourra éventuellement lui proposer une hormonothérapie. Cependant, on peut lui conseiller un savon adapté à son pH vaginal, dans la sélection des gels lavants hydratants. Celui-ci pourra par exemple contenir de la camomille, de l'avoine ou encore de l'aloé vera, aux propriétés apaisantes. De plus, les nettoyants sous forme de mousse seront plus appropriés, car plus doux. Au contraire, les gels lavants contenant de l'alcool (surtout en grande proportion) sont fortement déconseillés car celui-ci est très asséchant.

Il est également possible de conseiller une crème à visée hydratante à base d'acide hyaluronique (de type Cicatridine®) en attendant de pouvoir consulter son médecin ou son gynécologue. Lors des rapports sexuels, les gels lubrifiants à base d'eau permettront de restaurer l'humidification. Il faut cependant vérifier leur compatibilité avec les préservatifs (selon les désirs de la patiente). Enfin, on peut conseiller à la patiente des compléments

alimentaires oraux à base d'acide gras essentiels (comme la bourrache ou onagre), ou des probiotiques pour la prévention des dysbioses.

Il convient également de rappeler à la patiente les conseils de bonne hygiène intime (ne pas faire de douches vaginales, éviter l'utilisation du gant de toilette...).

CAS DE COMPTOIR N°2:

Une femme se présente au comptoir de votre pharmacie avec une ordonnance contenant :

- 1 ovule ECONAZOLE LP (à mettre le soir au coucher)
- ECONAZOLE crème (une application 2 fois par jour pendant 14 jours).

L'éconazole est un anti-fongique permettant de traiter des infections fongiques à *Candida albicans*.

Voici des exemples de questions pouvant être posées à la patiente:

- Quels signes cliniques a-t-elle ? Depuis quand ?
- Est-ce la première fois qu'elle souffre d'une mycose ? Si non, a-t-elle fait plus de 4 récurrences dans l'année (dans ce cas, une prescription d'antifongique par voie orale peut être envisagée)
- A-t-elle eu un changement hormonal ou physiologique ces derniers temps ?
- Quels produits d'hygiène utilise-t-elle ? Et à quelle fréquence se lave-t-elle ?

La patiente vous explique qu'elle a accouché il y a 3 mois. Cela fait déjà 3 fois depuis son accouchement qu'elle souffre d'une mycose (diagnostiquée par son médecin traitant). Elle vous dit pourtant suivre le traitement à la lettre. Elle vous demande des conseils.

Dans ce cas clinique, il faut tout d'abord rassurer la patiente car ses mycoses sont susceptibles d'altérer sa qualité de vie. Il faut rappeler que l'ovule n'est pas à destination de la voie orale mais de la voie vaginale. Il doit être appliqué préférentiellement le soir au coucher en position allongée, et introduit le plus profondément possible dans le vagin (pour éviter qu'il ne glisse avec la pesanteur). La crème doit être appliquée sur toutes les zones intimes potentiellement infectées par

Candida. L'utilisation de préservatifs et de spermicides est contre-indiquée après l'administration de l'ovule.

De plus, il est important de conseiller la patiente sur son mode de vie :

- Les douches vaginales ne sont pas recommandées car elles sont susceptibles de déséquilibrer le microbiote.
- Pour éviter la macération, porter des sous-vêtements amples en coton et non en matière synthétique comme le polyester (qui favorise le développement des bactéries)
- Eviter les sous-vêtements et vêtements serrés (jeans slims...).
- Changer de sous-vêtements fréquemment.
- Ne pas utiliser de talc.
- Réaliser une à deux toilettes intimes par jour au maximum.
- Ne pas se laver à l'eau claire.
- Eviter les savonnets classiques ou les savons de Marseille, au pH inadapté.
- Eviter les gels douches pour le corps.
- Ne pas utiliser d'antiseptiques chimiques au quotidien.
- Boire suffisamment (1.5L d'eau par jour) pour pallier à la déshydratation et la sécheresse locale.
- En cas de mycose récidivantes et au delà de 4 mycoses par an, une consultation chez le médecin est conseillée pour rechercher les causes éventuellement mettre en place un traitement par voie orale.

La patiente peut également utiliser un savon alcalin pendant 15 jours, 1 à 2 fois par jour.

L'eau thermale en spray peut être conseillée pour calmer les démangeaisons.

En complément, la patiente peut utiliser des probiotiques pour rééquilibrer son microbiote.

Au vu des études réalisées sur Gynophilus® concernant une diminution de la récurrence de la candidose vulvo-vaginale, on peut conseiller à la patiente d'en prendre après son traitement anti-fongique. Elle doit le prendre au coucher et l'insérer au fond du vagin.

Conclusion

Le microbiote vaginal possède un rôle crucial pour l'homéostasie de l'environnement vaginal. Bien équilibré, il permet de maintenir un milieu physiologique et possède des mécanismes pour se défendre contre les agressions possibles. Cependant, il peut être affaibli et le recours aux probiotiques permet de l'aider à se rééquilibrer.

L'objectif de cette thèse n'était pas d'établir une liste exhaustive des probiotiques disponibles ou une comparaison des différentes marques vendues en pharmacie, car elle serait rapidement rendue obsolète par les évolutions d'un marché en développement. Notre document permet de replacer ces produits dans le cadre d'un conseil pharmaceutique au comptoir prenant en compte une prise en charge globale à la fois par les règles hygiéno-diététiques et permettant d'expliciter aussi différents états pathologiques.

Les probiotiques à action vaginale font partie des produits conseils phares de la pharmacie. Utilisés pour prévenir, voire traiter différents troubles gynécologiques (vaginoses, mycoses, cystites, voire sécheresses vaginales), ils ont un objectif commun : « réensemencer la flore », afin de lutter contre divers pathogènes susceptibles de coloniser le vagin.

Le pharmacien joue un rôle primordial dans la prise en charge de la patiente. Il doit écouter, questionner, et conseiller face aux demandes au comptoir des femmes de tout âge sur ce sujet, mais il doit également savoir rediriger une patiente si la demande nécessite un avis gynécologique et/ou médical.

Bibliographie

1. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* sept 2005;34(5):513.
2. Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S. *Lactobacillus iners: Friend or Foe?* *Trends Microbiol.* mars 2017;25(3):182- 91
3. La vaginose bactérienne : facteurs de risques endogènes/exogènes et infection au papilloma virus associée.
4. Flore commensale vaginale - [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://microbiologiemedicale.fr/flore-commensale-vaginale/>
5. Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod Oxf Engl.* sept 2001;16(9):1809-13.
6. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, Hallén A, Fredlund H, Jensen JS, et al. Composition of the Vaginal Microbiota in Women of Reproductive Age – Sensitive and Specific Molecular Diagnosis of Bacterial Vaginosis Is Possible? Coenye T, éditeur. *PLoS ONE.* 9 avr 2013;8(4):e60670.
7. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases | *Nature Communications* [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-00901-0>
8. Le microbiote vaginal – Filipe De Vadder [Internet]. Share. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://share.miple.co/content/OkC0zAimnELN2>
9. Masson E. Rôle protecteur de la flore de Doderleïn [Internet]. EM-Consulte. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/114512/role-protecteur-de-la-flore-de-doderlein>)
10. Tachedjian G, Aldunate M, Bradshaw CS, Cone RA. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Res Microbiol.* déc 2017;168(9-10):782-92.
11. Vaneechoutte M. The human vaginal microbial community. *Res Microbiol.* déc 2017;168(9-10):811-25.
12. Selle K, Klaenhammer TR. Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of *Lactobacillus gasseri* on human health. *FEMS Microbiol Rev.* nov 2013;37(6):915-35.
13. Kurt Selle & Todd R. Klaenhammer - Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of *Lactobacillus gasseri* on human health. *FEMS Microbiol Rev* 37 (2013) 915–935. Full Text PDF [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/femsre/article-pdf/37/6/915/18142371/37-6-915.pdf>
14. Le microbiote vaginal de Rica Etienne et Dr Jean-Marc Bohbot | Marabout [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.marabout.com/livre/le-microbiote-vaginal-9782501135528/>
15. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P, et al. Hydrogen Peroxide--Producing *Lactobacilli* and Acquisition of Vaginal Infections. *J Infect Dis.* 1 nov 1996;174(5):1058-63.
16. Eschenbach DA. Bacterial vaginosis: emphasis on upper genital tract complications. *Obstet Gynecol Clin North Am.* sept 1989;16(3):593-610.
17. Antibiosis between bacteria isolated from the vagina of women with and without signs of bacterial vaginosis - Nagy - 1991 - *APMIS* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1699-0463.1991.tb01253.x>
18. Boris S, Suárez JE, Vázquez F, Barbés C. Adherence of Human Vaginal *Lactobacilli* to Vaginal Epithelial Cells and Interaction with Uropathogens. *Infect Immun.* mai 1998;66(5):1985-9.
19. *IJMS | Free Full-Text | Vaginal Lactobacilli and Vaginal Dysbiosis-Associated Bacteria Differently Affect Cervical Epithelial and Immune Homeostasis and Anti-Viral Defenses |*

- HTML [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/12/6487/htm#B2-ijms-22-06487>
20. Hearps AC, Tyssen D, Srbinovski D, Bayigga L, Diaz DJD, Aldunate M, et al. Vaginal lactic acid elicits an anti-inflammatory response from human cervicovaginal epithelial cells and inhibits production of pro-inflammatory mediators associated with HIV acquisition. *Mucosal Immunol.* nov 2017;10(6):1480-90.
 21. Biosurfactant/s from Lactobacilli species: Properties, challenges and potential biomedical applications - Satpute - 2016 - Journal of Basic Microbiology - Wiley Online Library [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jobm.201600143>
 22. Paraszkiwicz K, Moryl M, Płaza G, Bhagat D, K. Satpute S, Bernat P. Surfactants of microbial origin as antibiofilm agents. *Int J Environ Health Res.* 19 mai 2021;31(4):401-20.
 23. Dasari S. Chapter 1 - Recent Findings of Lactobacillus Diversity and Their Functional Role in Vaginal Ecosystems. In: Buddolla V, éditeur. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry* [Internet]. Academic Press; 2019 [cité 30 nov 2021]. p. 3-12. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128163283000015>
 24. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One.* 2013;8(11):e80074.
 25. Microbiote vaginale : Les effets de la ménopause [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.pileje.fr/revue-sante/microbiote-vaginale-effets-menopause>
 26. Colonna C, Steelman M. Amsel Criteria. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542319/>
 27. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* févr 1991;29(2):297-301.
 28. J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo), 2013, série D, 15(3) : 377-383. Affolabi D. Sissinto Y., Boko G., Etude comparative des critères d'amsel et du score de nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne à cotonou, Bénin. [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://bec.uac.bj/uploads/publication/487a0f85059e6241dfbaae3fac6d8906.pdf>
 29. Marie M. Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l'officine. :110. : thèse de pharmacie.
 30. Le microbiote vaginal, une protection pour le nouveau-né - EM consulte [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1051592/le-microbiote-vaginal-une-protection-pour-le-nouve>
 31. Diversity and the antimicrobial activity of vaginal lactobacilli: current status and future prospective - ScienceDirect [Internet]. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128212653000177>
 32. Thoma ME, Gray RH, Kiwanuka N, Aluma S, Wang MC, Sewankambo N, et al. Longitudinal changes in vaginal microbiota composition assessed by Gram-stain among never sexually active pre- and postmenarcheal adolescents in Rakai, Uganda. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* févr 2011;24(1):42-7.
 33. Eschenbach DA, Thwin SS, Patton DL, Hooton TM, Stapleton AE, Agnew K, et al. Influence of the Normal Menstrual Cycle on Vaginal Tissue, Discharge, and Microflora. *Clin Infect Dis.* 1 juin 2000;30(6):901-7.
 34. Hormone Imbalance, Menstrual Cycles & Hormone Testing [Internet]. Women in Balance Institute. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://womeninbalance.org/about-hormone-imbalance/>
 35. Masson E. Microflore de la mère et du nouveau-né : quelques aspects périnataux [Internet]. EM-Consulte. [cité 19 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/193709/article/microflore-de-la-mere-et-du-nouveau-ne-quelques-as>
 36. Sroka-Oleksiak A, Gosiewski T, Pabian W, Gurgul A, Kapusta P, Ludwig-Słomczyńska

- AH, et al. Next-Generation Sequencing as a Tool to Detect Vaginal Microbiota Disturbances during Pregnancy. *Microorganisms*. 18 nov 2020;8(11):1813.
37. Masson E. Flores bactériennes génitales au dernier trimestre de la grossesse [Internet]. EM-Consulte. [cité 19 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/114799/flores-bacteriennes-genitales-au-dernier-trimestre>
 38. Vornhagen J, Adams Waldorf KM, Rajagopal L. Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. *Trends Microbiol*. nov 2017;25(11):919-31.
 39. Muhleisen AL, Herbst-Kralovetz MM. Menopause and the vaginal microbiome. *Maturitas*. sept 2016;91:42-50.
 40. Le microbiote vaginal modifié par la ménopause [Internet]. Le microbiote vaginal modifié par la ménopause | Penser Santé. [cité 30 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.pensersante.fr/menopause-et-probiotiques>
 41. Melkumyan AR, Pripitnevich TV, Ankirskaya AS, Murav'eva VV, Lubasovskaya LA. Effects of Antibiotic Treatment on the Lactobacillus Composition of Vaginal Microbiota. *Bull Exp Biol Med*. avr 2015;158(6):766-8.
 42. Oriel JD, Waterworth PM. Effects of minocycline and tetracycline on the vaginal yeast flora. *J Clin Pathol*. 1 mai 1975;28(5):403-6.
 43. Nyirjesy P, McIntosh MJ, Gattermeir DJ, Schumacher RJ, Steinmetz JI, Joffrion JL. The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal lactobacilli in patients with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. mai 2006;194(5):1277-82.
 44. Korhonen J, Van Hoek AH, Saarela M, Huys G, Tosi L, Mayrhofer S, et al. Antimicrobial susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus*. *Benef Microbes*. 1 mars 2010;1(1):75-80.
 45. Farhan MA, Moharram AM, Salah T, Shaaban OM. Types of yeasts that cause vulvovaginal candidiasis in chronic users of corticosteroids. *Med Mycol*. 1 août 2019;57(6):681-7.
 46. Heidenreich S, Kubis T, Schmidt M, Fegeler W. Glucocorticoid-Induced Alterations of Monocyte Defense Mechanisms against *Candida albicans*. *Cell Immunol*. 1 sept 1994;157(2):320-7.
 47. Ngo LY, Kasahara S, Kumasaka DK, Knoblaugh SE, Jhingran A, Hohl TM. Inflammatory Monocytes Mediate Early and Organ-Specific Innate Defense During Systemic Candidiasis. *J Infect Dis*. 1 janv 2014;209(1):109-19.
 48. Fosch SE, Yones C, Trossero M, Grosso O, Perazzi B. Influence of Contraception on Basic Vaginal States: A Prospective Study. *Health (N Y)*. 4 févr 2015;07(02):238.
 49. Baeten JM, Nyange PM, Richardson BA, Lavreys L, Chohan B, Martin HL, et al. Hormonal contraception and risk of sexually transmitted disease acquisition: Results from a prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. août 2001;185(2):380-5.
 50. Spinillo A, Capuzzo E, Nicola S, Baltaro F, Ferrari A, Monaco A. The impact of oral contraception on vulvovaginal candidiasis. *Contraception*. mai 1995;51(5):293-7.
 51. Topozada M, Amer S, El-Ghazzawi E. Effect of subdermal levonorgestrel contraceptive implants on vaginal candidiasis. *Adv Contracept*. 1 juin 1986;2(2):117-22.
 52. Rahib Delphine, Le guen Mireille, Lydie Nathalie. Baromètre santé 2016 - Contraception. 2016;8.
 53. Calzolari E, Masciangelo R, Milite V, Verteramo R. Bacterial vaginosis and contraceptive methods. *Int J Gynecol Obstet*. sept 2000;70(3):341-6.
 54. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. [cité 6 févr 2022]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0278580.htm>
 55. Effects of a One Year Reusable Contraceptive Vaginal Ring on Vaginal Microflora and the Risk of Vaginal Infection: An Open-Label Prospective Evaluation [Internet]. [cité 6 févr 2022]. Disponible sur: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0134460>
 56. A comparison between the vaginal ring and oral contraceptives - PubMed [Internet]. [cité 6 févr 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15339769/>
 57. Hooton TM, Roberts PL, Stamm WE. Effects of Recent Sexual Activity and Use of a

- Diaphragm on the Vaginal Microflora. Clin Infect Dis. 1 août 1994;19(2):274-8.
58. Achilles SL, Hillier SL. The complexity of contraceptives: understanding their impact on genital immune cells and vaginal microbiota. AIDS. oct 2013;27:S5.
 59. Ma L, Lv Z, Su J, Wang J, Yan D, Wei J, et al. Consistent condom use increases the colonization of *Lactobacillus crispatus* in the vagina. PloS One. 2013;8(7):e70716.
 60. Champer M, Wong AM, Champer J, Brito IL, Messer PW, Hou JY, et al. The role of the vaginal microbiome in gynaecological cancer. BJOG Int J Obstet Gynaecol. févr 2018;125(3):309-15.
 61. Tsementzi D, Pena-Gonzalez A, Bai J, Hu YJ, Patel P, Shelton J, et al. Comparison of vaginal microbiota in gynecologic cancer patients pre- and post-radiation therapy and healthy women. Cancer Med. 2020;9(11):3714-24.
 62. Nyirjesy P, Sobel JD, Fung A, Mayer C, Capuano G, Ways K, et al. Genital mycotic infections with canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus: a pooled analysis of clinical studies. Curr Med Res Opin. juin 2014;30(6):1109-19.
 63. Payne SC, Cromer PR, Stanek MK, Palmer AA. Evidence of African-American women's frustrations with chronic recurrent bacterial vaginosis. J Am Acad Nurse Pract. 1 févr 2010;22(2):101-8.
 64. Cottrell BH. An updated review of evidence to discourage douching. MCN Am J Matern Child Nurs. avr 2010;35(2):102-7; quiz 108-9.
 65. Chen Y, Bruning E, Rubino J, Eder SE. Role of female intimate hygiene in vulvovaginal health: Global hygiene practices and product usage. Womens Health. déc 2017;13(3):58-67.
 66. Le microbiote vaginal de Rica Etienne et Dr Jean-Marc Bohbot | Marabout [Internet]. [cité 30 décembre 2021]. Disponible sur: <https://www.marabout.com/livre/le-microbiote-vaginal-9782501135528/>
 67. Lambers et al. - 2006 - Natural skin surface pH is on average below 5, whi.pdf.
 68. Feminine Odor Problems? What Every Woman Needs to Know [Internet]. Cleveland Clinic. 2021 [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://health.clevelandclinic.org/feminine-odor-problems-what-you-should-know-about-douching/>
 69. Reed BD, Gorenflo DW, Gillespie BW, Pierson CL, Zazove P. Sexual Behaviors and Other Risk Factors for *Candida* Vulvovaginitis. J Womens Health Gend Based Med. juill 2000;9(6):645-55.
 70. Jaspers V, Hardy L, Buyze J, Loos J, Buvé A, Crucitti T. Association of Sexual Debut in Adolescents With Microbiota and Inflammatory Markers. Obstet Gynecol. juill 2016;128(1):22-31.
 71. Potter N, Panay N. Vaginal lubricants and moisturizers: a review into use, efficacy, and safety. Climacteric. 2 janv 2021;24(1):19-24.
 72. Brotman RM, He X, Gajer P, Fadrosch D, Sharma E, Mongodin EF, et al. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. BMC Infect Dis. déc 2014;14(1):471.
 73. Hellberg D, Nilsson S, Mårdh PA. Bacterial vaginosis and smoking. Int J STD AIDS. 1 sept 2000;11(9):603-6.
 74. Nelson TM, Borgogna JC, Michalek RD, Roberts DW, Rath JM, Glover ED, et al. Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tract metabolomic profile. Sci Rep. déc 2018;8(1):852.
 75. Hirji I, Andersson SW, Guo Z, Hammar N, Gomez-Caminero A. Incidence of genital infection among patients with type 2 diabetes in the UK General Practice Research Database. J Diabetes Complications. nov 2012;26(6):501-5.
 76. Jackson RA, Bryan C, Weeks BA. Phagocytosis of *Candida albicans* by polymorphonuclear leukocytes from normal and diabetic subjects. Adv Exp Med Biol. 1979;
 77. Nyirjesy P, Sobel JD. Genital Mycotic Infections in Patients With Diabetes. Postgrad

- Med. mai 2013;125(3):33-46.
78. Lai SK, Hida K, Shukair S, Wang YY, Figueiredo A, Cone R, et al. Human immunodeficiency virus type 1 is trapped by acidic but not by neutralized human cervicovaginal mucus. *J Virol.* nov 2009;83(21):11196-200.
 79. Martin HL, Richardson BA, Nyange PM, Lavreys L, Hillier SL, Chohan B, et al. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. *J Infect Dis.* déc 1999;180(6):1863-8.
 80. Mead PB. Cervical-vaginal flora of women with invasive cervical cancer. *Obstet Gynecol.* nov 1978;52(5):601-4.
 81. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS, Smith A, Marchesi JR, Lehne B, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep.* déc 2015;5(1):16865.
 82. Oh HY, Kim BS, Seo SS, Kong JS, Lee JK, Park SY, et al. The association of uterine cervical microbiota with an increased risk for cervical intraepithelial neoplasia in Korea. *Clin Microbiol Infect.* juill 2015;21(7):674.e1-674.e9.
 83. Rosta K, Mazzucato-Puchner A, Kiss H, Malik V, Mandl P, Petricevic L, et al. Vaginal microbiota in pregnant women with inflammatory rheumatic and inflammatory bowel disease: A matched case-control study. *Mycoses.* 2021;64(8):909-17.
 84. Turovskiy Y, Sutyak Noll K, Chikindas ML. The aetiology of bacterial vaginosis: Aetiology of bacterial vaginosis. *J Appl Microbiol.* mai 2011;110(5):1105-28.
 85. Nappi RE, Palacios S, Panay N, Particco M, Krychman ML. Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. *Climacteric.* 3 mars 2016;19(2):188-97.
 86. Hillier SL, Lau RJ. Vaginal Microflora in Postmenopausal Women Who Have Not Received Estrogen Replacement Therapy. *Clin Infect Dis.* sept 1997;25(s2):S123-6.
 87. Nansel TR, Riggs MA, Yu KF, Andrews WW, Schwebke JR, Klebanoff MA. The association of psychosocial stress and bacterial vaginosis in a longitudinal cohort. *Am J Obstet Gynecol.* févr 2006;194(2):381-6.
 88. Butel MJ. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *J Anti-Infect.* juin 2014;16(2):33-43.
 89. Faure S, Pubert C, Rabiller J, Taillez J, Yvain AL. Que savons-nous des probiotiques ? *Actual Pharm.* sept 2013;52(528):18-21.
 90. Compléments alimentaires - Ministère de la Santé et de la Prévention [Internet]. [cité 23 sept 2022]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/denrees-alimentaires/article/complements-alimentaires>
 91. Elli M, Zink R, Rytz A, Reniero R, Morelli L. Iron requirement of *Lactobacillus* spp. in completely chemically defined growth media. *J Appl Microbiol.* avr 2000;88(4):695-703.
 92. Mécanismes d'action | Science for health [Internet]. 2014 [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://fr.scienceforhealth.be/mecanismes-daction/>
 93. Defense factors of vaginal lactobacilli - ScienceDirect [Internet]. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0002937801772353>
 94. Evaluation of adherence and anti-infective properties of probiotic *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans - ScienceDirect [Internet]. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401019305388>
 95. Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF-kappaB activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 7 sept 2010;16(33):4145-51.
 96. Basic characteristics of selection of a probiotic strains. [Internet]. ResearchGate. [cité 14 août 2022]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Basic-characteristics-of-selection-of-a-probiotic-strains_fig2_261989934
 97. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection | The American Journal of Clinical Nutrition | Oxford Academic [Internet]. [cité 23 sept 2022]. Disponible sur:

- <https://academic.oup.com/ajcn/article/73/2/437s/4737575>
98. Morelli L, Zonenenschain D, Del Piano M, Cognein P. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. *J Clin Gastroenterol*. juill 2004;38(6 Suppl):S107-110.
 99. Cribby S, Taylor M, Reid G. Vaginal Microbiota and the Use of Probiotics. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008;2008:1-9.
 100. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW. Probiotic *Lactobacillus* dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1 déc 2001;32(1):37-41.
 101. 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*. 20 mars 2003;35(2):131-4.
 102. KC. How do probiotics stay alive until they are consumed? [Internet]. International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP). 2020 [cité 19 oct 2022]. Disponible sur: <https://isappscience.org/how-do-probiotics-stay-alive-until-they-are-consumed/>
 103. Reid G. In vitro testing of *Lactobacillus acidophilus* NCFM™ as a possible probiotic for the urogenital tract. *Int Dairy J*. 31 déc 2000;10:415-9.
 104. McGroarty JA. Probiotic use of lactobacilli in the human female urogenital tract. *FEMS Immunol Med Microbiol*. avr 1993;6(4):251-64.
 105. Famularo G, Perluigi M, Pieluigi M, Coccia R, Mastroiacovo P, De Simone C. Microecology, bacterial vaginosis and probiotics: perspectives for bacteriotherapy. *Med Hypotheses*. avr 2001;56(4):421-30.
 106. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, éditeurs. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations : World Health Organization; 2006. 50 p. (FAO food and nutrition paper).
 107. Palmeira-de-Oliveira R, Palmeira-de-Oliveira A, Martinez-de-Oliveira J. New strategies for local treatment of vaginal infections. *Adv Drug Deliv Rev*. 15 sept 2015;92:105-22.
 108. Cohen CR, Wierzbicki MR, French AL, Morris S, Newmann S, Reno H, et al. Randomized Trial of Lactin-V to Prevent Recurrence of Bacterial Vaginosis. *N Engl J Med*. 14 mai 2020;382(20):1906-15.
 109. Kassaa IA, Hober D, Hamze M, Caloone D, Dewilde A, Chihib N eddine, et al. Vaginal *Lactobacillus gasseri* CMUL57 can inhibit herpes simplex type 2 but not Coxsackievirus B4E2. *Arch Microbiol*. juin 2015;197(5):657-64.
 110. Rose Jørgensen M, Thestrup Rikvold P, Lichtenberg M, Østrup Jensen P, Kragelund C, Twetman S. *Lactobacillus rhamnosus* strains of oral and vaginal origin show strong antifungal activity in vitro. *J Oral Microbiol*. 18 oct 2020;12(1):1832832.
 111. Palacios S, Espadaler J, Fernández-Moya JM, Prieto C, Salas N. Is it possible to prevent recurrent vulvovaginitis? The role of *Lactobacillus plantarum* I1001 (CECT7504). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. oct 2016;35(10):1701-8.
 112. Kern AM, Bohbot JM, Cardot JM. Traitement préventif de la candidose vulvovaginale récidivante par probiotique vaginal : résultats de l'étude observationnelle Candiflore.
 113. Coudeyras S, Jugie G, Vermerie M, Forestier C. Adhesion of Human Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* to Cervical and Vaginal Cells and Interaction with Vaginosis-Associated Pathogens. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2008;2008:549640.
 114. Petricevic L, Witt A. The role of *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. oct 2008;115(11):1369-74.
 115. Wang Z, He Y, Zheng Y. Probiotics for the Treatment of Bacterial Vaginosis: A Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 12 oct 2019;16(20):E3859.
 116. Xie HY, Feng D, Wei DM, Mei L, Chen H, Wang X, et al. Probiotics for vulvovaginal candidiasis in non-pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev*. 23 nov 2017;11:CD010496.

117. Grin PM, Kowalewska PM, Alhazzan W, Fox-Robichaud AE. Lactobacillus for preventing recurrent urinary tract infections in women: meta-analysis. *Can J Urol.* févr 2013;20(1):6607-14.
118. Ribeiro AE, Monteiro NES, Moraes AVG de, Costa-Paiva LH, Pedro AO. Can the use of probiotics in association with isoflavone improve the symptoms of genitourinary syndrome of menopause? Results from a randomized controlled trial. *Menopause N Y N.* 10 déc 2018;26(6):643-52.
119. Elias J, Bozzo P, Einarson A. Are probiotics safe for use during pregnancy and lactation? *Can Fam Physician Med Fam Can.* mars 2011;57(3):299-301.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023

Nom : BOULANGER

Prénom : Rachel

Titre de la thèse : Le microbiote vaginal au cours de la vie d'une femme, conseils à l'officine et usage des probiotiques.

Mots-clés : Flore de Doderlein, microbiote vaginal, *Lactobacillus*, dysbiose endogène, dysbiose exogène, hygiène intime, probiotiques

Résumé : Au même titre que le microbiote intestinal, le microbiote vaginal est d'une importance capitale pour prévenir l'apparition de nombreuses pathologies chez les femmes de tout âge. Ce microbiote est influencé par divers facteurs, liés pour certains aux phénomènes physiologiques rencontrés durant la vie d'une femme, mais également à des comportements protecteurs ou nocifs pour son équilibre.

Les probiotiques destinés à traiter ou à prévenir ces pathologies et inconforts gynécologiques font partie des produits phares de la pharmacie d'officine. Cependant, leur compréhension est rendue difficile par la variété de gammes, de mécanismes d'action avancés ou encore de voies d'administration. Entre discours commerciaux et réalité scientifique, il convient toujours de garder un esprit critique et de maintenir ses connaissances à jour. Cette thèse a pour vocation d'aider tant les professionnels de Santé que les patients à comprendre le microbiote vaginal et les diverses indications des probiotiques.

Membres du jury :

Président : Mr Foligné Benoît, Professeur des Universités de Lille, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Mme Singer Elisabeth, Maître de conférences, Laboratoire de Bactériologie et Virologie, Faculté de Pharmacie de Lille

Membres extérieurs :

Mme Delattre Sandra, pharmacien adjoint, Pharmacie Mivoix de Calais

Mme Gleasterman Elise, pharmacien adjoint, Pharmacie Desir à Lille