



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tebessi –Tébessa



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : biologie appliquée

Filière : science biologique

MEMOIRE

Option : microbiologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Thème :

**Caractérisation phénotypique et biochimique de lactobacilles  
et autres microorganismes isolés de la cavité vaginale**

Présenté par :

Cheriet Maroua

Laouar Achouak

Latreche Maroua

Date de soutenance : 28-06-2020

Devant le jury :

Dr. Boukoucha Mourad	MCA	Université de Larbi tebessi	Président
Dr. Benhadj Mabrouka	MCB	Université de Larbi tebessi	Rapporteuse
Dr. Menasria Taha	MCB	Université de Larbi tebessi	Examineur

Année universitaire : 2019-2020



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tebessi –Tébessa



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : biologie appliquée

Filière : science biologique

MEMOIRE

Option : microbiologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Thème :

**Caractérisation phénotypique et biochimique de lactobacilles  
et autres microorganismes isolés de la cavité vaginale**

Présenté par :

Cheriet Maroua

Laouar Achouak

Latreche Maroua

Date de soutenance : 28-06-2020

Devant le jury :

Dr. Boukoucha Mourad	MCA	Université de Larbi tebessi	Président
Dr. Benhadj Mabrouka	MCB	Université de Larbi tebessi	Rapporteuse
Dr. Menasria Taha	MCB	Université de Larbi tebessi	Examinateur

Année universitaire : 2019-2020

## **Remerciement**

*J'exprime tout d'abord mes profonds remerciements à **Allah** qui m'a donné le courage et la volonté de mener à terme ce modeste travail.*

*J'adresse mes très sincères remerciements à mon encadreur*

***Benhadj Mabrouka** qui m'a touché par sa modestie et gentillesse, de m'avoir conseillé et orienté tout au long de mon travail.*

*Afin d'accomplir ce travail. Ainsi que tout le personnel du laboratoire de l'EPSP (4 mars) et spécialement madame **Baali** pour son accueil chaleureux et sa modestie.*

*Je remercie le Docteur **Boukoucha** d'avoir accepté de présider ce jury. Je tiens à remercier aussi le Docteur **Menassria** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je remercie tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie.*

*Je tiens à remercier tous les ingénieurs du laboratoire de microbiologie et spécialement, Mme **Chahra** pour leur patience et leur gentillesse.*



## Dédicace

*Grace à Allah*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers **parents**, pour leur joie de vivre, leur patience et volonté dont vous m'avez toujours entourée et que vous m'avez transmise. Je vous remercie du fond du cœur pour m'avoir encouragée et conseillée durant mes études*

*Que Dieu les garde pour moi.*

*A mon binômes **Achouak** et **Maroua**,*

*Je dédie ce travail à toutes nos préparations, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie. A tous les moments qu'on a passés ensemble.*

*A mes amies et particulièrement à **Amira**, Je vous remercie pour votre soutien tout le long de ces années et pour les moments passés de joie ou de tristesse toujours on a été épaulés l'un à l'autre.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*A toute la promotion Microbiologie Appliquée 2019/2020.*

*A tous mes professeurs durant les cycles de ma scolarité*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

***Cheriet Maroua.***

*Grace à Allah*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents :*

*Ma chère mère Zouai Noura, pour l'affection et l'amour qu'elle m'a donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.*

*Mon père Samir, pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement sans limite.*

*A mes chers frères : Salah et Akrem.*

*A ma chère sœur : Safaa*

*A ma famille : Mes grandes parents, Mes tantes ; Nabila, Malika, Atika, Aicha, Sabrina, Amina.*

*A mes collègues de travail sans exception et mon chef de service Guedri Hamid pour leur aide et soutien*

*A mes belles cousines : Rimen, Chaïma, Bouthaina et Doudou*

*A mes proches : Fella, Romaiïssa, Wissem*

*A toutes mes amies et particulièrement à Chourouk et Rayen.*

*A mes binômes : Maroua et Achouak*

*Latreche Maroua.*

*Grace à Allah*

*Je tiens à dédier ce modeste travail :*

*A ma chère mère Louiza et à mon cher père Abd Elhamide symbole de reconnaissance et de remerciements sur tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie, leurs sacrifices illimités, leurs réconforts moraux, eux qui ont consenti tant d'effort et qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont soutenu et encouragé pour mon éducation.*

*A Mes grands-mères Aïcha et khadija et mes grands-pères Sadek et Mohamed.*

*A mes frères Alla Eldin et Abd Elrazak et mes chère sœurs Abir ,Rodayna et Rimas.*

*A mes binômes Cheriët Maroua et Latreche Maroua.*

*A mes très chères copines Rania et Bahia.*

*A toute la promotion Microbiologie Appliqué 2019/2020. Ainsi qu'à tous ceux qui me sont chers.*

*Laouar Achouak.*

## Résumé

Cette étude a été effectuée sur treize femmes de la polyclinique 04 mars « Chahid Khediri Lakhel » Tébessa entre Février et Mars 2020. L'objectif de ce travail étaient dans un premier temps l'étude de la diversité de la flore vaginale et plus particulièrement des lactobacilles et dans un deuxième temps l'étude de leurs caractérisations biochimiques.

L'identification des souches isolées a été réalisée par des tests biochimiques et des examens biologique et l'utilisation de la système Api 20E.

L'examen direct a montré la prédominance de Cocci Gram positives et bacilles à Gram positifs dans 09 prélèvements correspondant à 90%, ainsi que les bacilles à Gram négatif et les levures ont représenté respectivement 60% et 50% des prélèvements. La répartition par espèce a montré la prédominance des bactéries lactiques qui a représenté 33.33% des isolats, suivi les Staphylocoques avec 24.24%, puis d'*Escherichia coli* avec 12.12%, *Pseudomonas spp* et *Candida albicans* avec des taux de 9.09% et 6.06% pour les Citrobacter et *Candida glabrata*.

Il ressort de cette étude que la microflore vaginale est très hétérogène et constituée de diverses espèces.

**Mots-clés :** Flore vaginale, Lactobacilles, la flore de Doderleïn.

## Abstract

This study was carried out on thirteen women from the polyclinic March 04 "Chahid Khediri Lakhel" Tebessa between February and March 2020. The objectives were initially to study the diversity of the vaginal flora and more particularly lactobacilli and in second, the study of their biochemical characterizations.

The identification of the isolated strains was carried out by biochemical tests and biological examinations and the use of the Api 20E system for enterobacteria.

Direct examination showed the predominance of Cocci Gram-positive and Gram-positive bacilli which are represented in 09 samples corresponding to 90%, as well as Gram-negative bacilli and yeasts representing 60% and 50% of samples respectively. The distribution by species showed the predominance of lactic acid bacteria which represented 33.33% of the isolates, followed by staphylococci with 24.24%, then *Escherichia coli* with 12.12%, and *Pseudomonas spp* and *Candida albicans* with rates of 9.09%, and 6.06% for *Citrobacter* and *Candida glabrata*.

It emerges from this study that the vaginal microflora is very heterogeneous and constitute various species.

**Keywords:** Vaginal flora, Lactobacilli, Doderlein flora.



## ملخص

أجريت هذه الدراسة على ثلاثة عشر سيدة من عيادة 04 مارس "شهيد خديري لكحل" تبسة بين شهري فيفري ومارس 2020. يتمثل الهدف الأول من هذا العمل في دراسة تنوع الكائنات الدقيقة المهبلية وخاصة العصيات اللبنية، و ثانيا دراسة خصائصها البيوكيميائية.

تم تحديد السلالات المعزولة عن طريق اختبارات بيوكيميائية وفحوصات بيولوجية وكذلك استخدام نظام Api 20E للجراثيم المعوية.

أظهر الفحص المباشر هيمنة الكريات و العصيات ذات الجرام الايجابي في 09 عينات بنسبة 90%، اما بالنسبة للعصيات سلبية الجرام والخمائر مثلت على التوالي 60% و 50% من العينات. أظهر التوزيع حسب الأنواع غلبة بكتريا حمض اللاكتيك التي مثلت 33,33% من العزلات ، تليها Staphylococoques بنسبة 24,24% ، ثم *E. coli* بنسبة 12,12% ، *Pseudomonas spp* و *Candida albicans* بنسبة 9,09%. و كان معدل العزل 6,06% بالنسبة لـ *Citrobacters* و *Candida glabrata*.

و منه يتبين من هذه الدراسة أن البكتيريا المهبلية غير متجانسة وتتشكل من أنواع مختلفة.

**الكلمات الرئيسية :** النباتات المهبلية ، العصيات اللبنية ، نباتات Doderlein.

## Listes des tableaux

<b>Tableau 01</b> : La différence entre leucorrhée physiologique et pathologique.....	14
<b>Tableau 02</b> : Récapitulatif des patientes et l'âge de chaque une.....	19
<b>Tableau 03</b> : Résultat de la mise en culture et de la coloration de Gram (après repiquage).	28
<b>Tableau 04</b> : Distribution des microorganismes selon la morphologie et le type de Gram...	32
<b>Tableau 05</b> : Résultats des tests d'identification des lactobacilles.....	33
<b>Tableau 06</b> : Caractères biochimiques d'identification des Entérobactéries (Api 20E) .....	35
<b>Tableau 07</b> : Identification des souches isolé à partir de milieux Chapman.....	36
<b>Tableau 08</b> : Résultats d'isolement sur chroma-agar <i>Candida</i> .....	38

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Vue schématique de la moitié droite d'une coupe médiane de bassin féminin.....	03
<b>Figure 02</b> : Mécanismes des lactobacilles vaginaux pour inhiber les pathogènes.....	07
<b>Figure 03</b> : Effets des lactobacilles possédant l'enzyme arginine désaminase.....	09
<b>Figure 04</b> : Mécanismes impliqués dans les phénomènes d'adhésion.....	10
<b>Figure 05</b> : Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par adhésion des lactobacilles à la fibronectine.....	10
<b>Figure 06</b> : Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par la production des biosurfactants.....	11
<b>Figure 07</b> : Méthode d'un prélèvement sous spéculum.....	21
<b>Figure 08</b> : Aspect microscopique des cellules indicatrices ( <i>clue cells</i> ) .....	22
<b>Figure 09</b> : Aspect macroscopique des lactobacilles sur MRS solide.....	32
<b>Figure 10</b> : Photographies optiques (x100) de l'aspect cellulaire de deux isolats des bactéries lactiques après coloration de Gram.....	33
<b>Figure 11</b> : graphe représentant le pourcentage des isolats lactiques sur MRS solide.....	34
<b>Figure 12</b> : Identification biochimique par la Galerie API 20E.....	35
<b>Figure 13</b> : Aspect macroscopique de mannitol (+ et -) sur milieu Chapman.....	36
<b>Figure 14</b> : Résultat d'un catalase positive.....	37
<b>Figure 15</b> : Résultat d'un coagulase positive.....	37
<b>Figure 16</b> : Aspect macroscopique de <i>Candida albicans</i> sur chroma-agar candida.....	38

## **Listes des planches**

<b>Planche 01</b> : Photos d'observation au microscope optique (x100) après coloration de gram.	30
<b>Planche 02</b> : Photos d'observation macroscopique des quelques isolats.....	31

## **Listes des annexes**

**Annexe I :** Composition des milieux (en g/l d'eau distillée).

**Annexe II :** Préparation des milieux.

## Listes des abréviations

**FV** : Flore vaginale.

**PH** : Potentiel hydrogène.

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

**O<sub>2</sub>** : Dioxygène.

**H<sub>2</sub>O** : Monoxyde de dihydrogène.

**OH•** : Radical hydroxyl.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxide.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide hydrogéné.

**PN** : Polynucléaires.

**IGB** : Les infections génitales.

**IGH** : Les infections génitales hautes.

**VB** : Vaginose bactérien.

**C** : *Candida*.

**IST** : Infection sexuellement transmissible.

**CT** : *Chlamydia trachomatis*.

**NG**: *Neisseria gonorrhoeae*.

**MG**: *Mycoplasma genitalium*.

**ATO** : Abcès tubo-ovariens.

**MST** : Maladie sexuellement transmissible.

**TV** : Toucher vaginal.

**EPSP** : établissement public de santé de proximité.

**F** : Femme.

**API** : Analytical Profile Index.

**VP** : Vogue Proskauer.

**TDA**: Tryptophan désaminase.

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

**IND** : Indole.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.

**Na Cl** : Chlorure de sodium.

**BGN** : Bacille à gram négative.

**BGP** : Bacille à gram positive.

**CGN** : Cocci à gram négative.

**CGP** : Cocci à gram positive.

**ND** : Non déterminée.

# **Sommaire**



Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Listes des tableaux

Listes des figures

Listes des planches

Listes des annexes

Listes des abréviations

Introduction

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre I : Flore génitale de la femme**

1. Anatomie et physiologie de l'appareil génitale.....	03
1.1. Les organes génitaux interne.....	03
1.1.1. Les ovaires.....	03
1.1.2. Trompe de Fallope.....	03
1.1.3. L'utérus.....	03
1.1.4. Le vagin.....	04
1.2. Les organes génitaux externes.....	04
1.2.1. Les grandes lèvres.....	04

1.2.2. Les petites lèvres.....	04
1.2.3. Le vestibules vagin.....	04
2. Flore vaginale normale.....	04
3. L 'évolution de la flore vaginale au cours de la vie.....	05
3.1. Des premières semaines à la petite enfance.....	05
3.2. Au moment de la puberté.....	05
3.3. A la ménopause.....	05

## **Chapitre II : Rôle protecteur de la flore de Doderleïn**

1. Taxonomie.....	06
2. Morphologie.....	06
3. Habitat.....	06
4. Caractères cultureux.....	06
5. Action des lactobacilles vis-à-vis des germes pathogènes.....	06
5.1. Inhibition de la croissance du pathogène.....	07
5.1.1. Production d'acide lactique.....	07
5.1.2. Production de peroxyde d'hydrogène H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	07
5.1.3. Production de bactériocines.....	08
5.1.4. Production de l'enzyme arginine désaminase.....	09
5.2. Inhibition de l'adhésion du pathogène.....	09
5.2.1. Adhésion aux cellules épithéliales vaginales.....	09
5.2.2. Adhésion à la fibronectine humaine.....	10

5.2.3. Production de biosurfactant.....	11
5.3. Inhibition de l'expansion du pathogène.....	11

### **Chapitre III : Déséquilibre de la microflore vaginale**

1. Facteurs de déséquilibre.....	13
2. Leucorrhées.....	14
3. Les infections vaginales.....	14
3.1. Les infections génitales basses (IGB).....	15
3.1.1. Vaginose bactérienne.....	15
3.1.2. Mycose vaginale.....	15
3.1.3. Vulvo-vaginite à <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	15
3.1.4. Vaginite.....	15
3.1.5. Cervicite.....	15
3.2. Les infections génitales hautes (IGH).....	16
3.2.1. Endométrites.....	16
3.2.2. Salpingites.....	16
3.2.3. Un abcès tubo-ovarien (ATO).....	16
3.2.4. Pelvipéritonites d'origine génitale.....	17

### **Partie pratique**

1. Objectif.....	19
2. Cadre de l'étude.....	19

3. Matériels et méthodes.....	19
3.1. Matériels.....	19
3.2. Méthodes.....	21
4. Résultats et discussion.....	28

Conclusion générale et perspective

Références bibliographiques

Annexes

## **Introduction**

La flore vaginale normale est composée d'un grand nombre de microorganismes dont la majorité sont des lactobacilles formant la flore de Döderlein. Ces dernières forment un élément très important de l'écosystème vaginal (**Lefras et Labdi, 2018**), Ils protègent naturellement le milieu vaginal en limitant et en inhibant la croissance des germes pathogènes susceptibles de provoquer un déséquilibre de cet écosystème.

Les infections microbiennes de vagin chez les femmes sont des problèmes de santé qui entraîne des graves complications et conséquence, le vagin pourrait être infecté par une variété d'agent pathogènes, notamment des bactéries, des champignons, des parasites (**Abd alaziz et al., 2014**) qui cause un déséquilibre dans la flore normal en principe les lactobacilles.

Par conséquent, diverses étiologies des infections vaginales entraînent un certain nombre de complication gynécologiques, ce qui le rend un problème de santé mondial pour la femme (**Mulu et al., 2015**).

Pour cette raison nous sommes intéressés à réaliser cette étude au niveau de la willaya de Tébessa pour rechercher tous les microorganismes présentant dans la cavité vaginale et à évaluer leurs critères biochimiques.

L'objectif de ce travail sont donc :

- Étudier les variations de la microflore vaginales.
- Identification de tous les germes isolés et déterminer leurs caractères biochimiques.

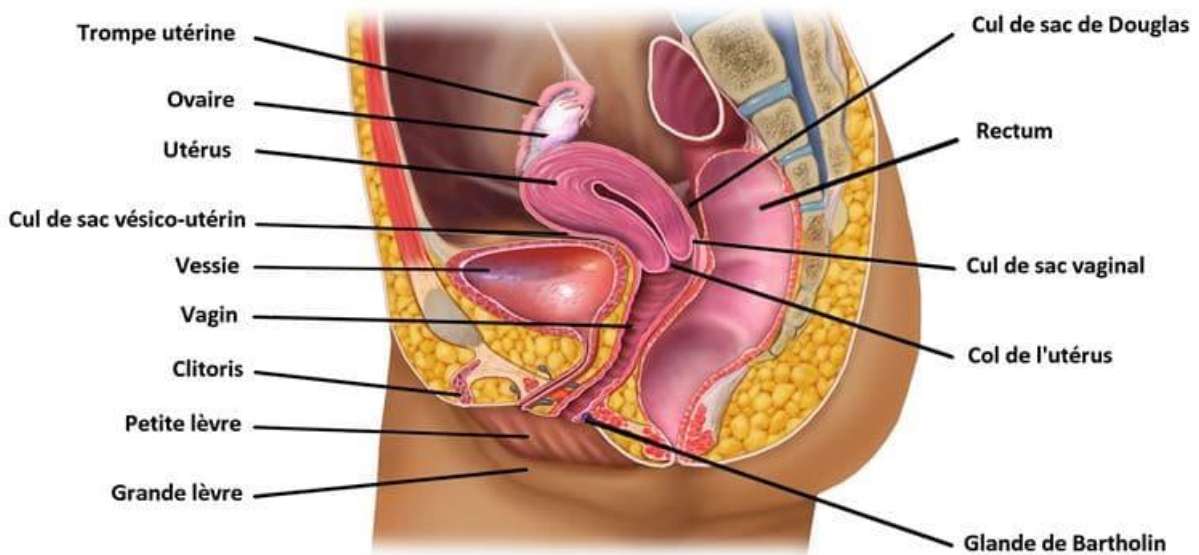
Enfin, ce manuscrit est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre est une revue bibliographique qui commence par définition de l'anatomie et physiologie de l'appareil génitale, puis la flore vaginale normale, L'évolution de la flore vaginale au cours de la vie, le rôle protecteur de la flore de Doderlein, les Facteurs de déséquilibre de la microflore vaginal et définition de l'infection vaginal et leurs types. Dans le deuxième chapitre, nous évoquerons le matériel et les méthodes utilisés dans l'isolement, l'identification de toutes les germes présents dans la cavité vaginal. Et dans le dernier chapitre, nous présentons les résultats obtenus, ainsi que leur discussion. Finalement, une conclusion générale puis quelques perspectives seront présentées.

# *Partie bibliographique*

## Chapitre I : Flore génitale de la femme

### 1. Anatomie et physiologie de l'appareil génital

L'appareil génital féminin est constitué de deux types d'organes : les organes génitaux internes, situés à l'intérieur de la cavité pelvienne et les organes génitaux externe (**Marieb, 2005**).



**Figure 01** : Vue schématique de la moitié droite d'une coupe médiane de bassin féminin (**Faller, 2006**).

#### 1.1. Les organes génitaux internes

##### 1.1.1. Les ovaires

Les ovaires sont les glandes femelles (**Nathalie, 2007**) de 4 cm de long plus ou moins par le pavillon de la trompe de Fallope (**Gernigon, 2003**), chaque femme possède deux ovaires situés de part de l'utérus. Ils élaborent les gamètes femelles (les ovules) et secrètent les hormones sexuelles femelles (**Nathalie, 2007**).

##### 1.1.2. Trompe de Fallope

Ce sont les deux conduits qui relient les ovaires à l'utérus (**Nathalie, 2007**), chaque trompe mesure environ 10 cm de long et s'étend vers le plan médian à partir de la région de l'ovaire (**Marieb, 2005**) et servent à recueillir l'ovule après l'ovulation. Par ailleurs, c'est à ce niveau que s'effectue la fécondation de l'ovule et son transfert vers l'utérus (**Menche, 2014**).

##### 1.1.3. L'utérus

L'utérus ou la matrice se trouve entre la vessie en avant et le rectum en arrière. Il a la forme et les dimensions (7,5 cm de hauteur, 3 à 4 cm de largeur et 2,5 cm d'épaisseur) (**Faller et al., 2006**), il s'agit d'un organe creux et musculéux, aux parois épaisses, destiné à accueillir, à héberger et à nourrir l'ovule fécondé (**Marieb, 2005**).

#### 1.1.4. Le vagin

Est un tube à paroi mince mesurant de 8 à 10 cm de long. Il est localisé entre la vessie et le rectum et s'étend du col de l'utérus jusqu'à l'extérieur du corps au niveau de la vulve (**Marieb, 2005**).

#### 1.2. Les organes génitaux externes

Les organes génitaux situés à l'extérieur du vagin sont appelés organes génitaux externes ou vulve (**Marieb, 2005**).

##### 1.2.1. Les grandes lèvres

Deux replis cutanés épais contenant du tissu adipeux (**Faller et al., 2006**), recouvertes de poils délimitent la fente vaginale. Elles contiennent des glandes sudoripares et odorifères (**Menche, 2014**).

##### 1.2.2. Les petites lèvres

Deux replis de peau mince, délicate et dépourvu de poils se trouvent entre les grandes lèvres, les petites lèvres délimitent une fossette appelée vestibules (**Marieb, 2005**).

##### 1.2.3. Le vestibules vagin

Contient le méat urétral à l'avant et l'orifice vaginal vers l'arrière (**Marieb, 2005**). Plusieurs glandes vestibulaires majeures et les deux glandes majeures (glandes de Bartholin) situées dans les petites lèvres maintiennent avec leur sécrétion l'humidité du vestibule vaginal (**Menche, 2014**).

#### 2. Flore vaginale normale

La flore vaginale normale compte des bactéries tant aérobiques qu'anaérobiques, les microorganismes de l'espèce *Lactobacillus* occupant une place prédominante et constituant plus de 95 % de toutes les bactéries présentes (**Mark et Deborah, 2008**).

Ces bactéries peuvent être groupées en trois populations de bactéries définies en fonction de leur origine écologique (**Quentin et al., 2007**).

- **Groupe 1** : La flore bactérienne de portage habituel (flore dominante) est spécifiquement adaptée à la cavité vaginale : elle est essentiellement constituée de lactobacilles (flore de Doderlein) de 1 à 4 espèces /femme, et des corynébactéries et des streptocoques.
- **Groupe 2** : La flore bactérienne issue de la flore digestive colonise souvent les voies génitales maternelles (2 à 80%). Elle est constituée des éléments suivants : *Streptococcus agalactiae* et *Enterococcus*. Entérobactéries (*E. coli*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*). BGN aérobies strictes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, etc...), Staphylocoques. Bactéries



anaérobies (*Bacteroides spp*, *Prevotella spp*, *Clostridium spp*, *Peptostreptococcus spp*, etc...). *Gardnerella vaginalis*. Mycoplasmes, en particulier *Mycoplasma hominis*. Streptocoques viridans (*S. acidominimus*, *S. intermedius*, *S. morbillorum*). *Candida albicans*.

- **Groupe 3** : Des hôtes de portage exceptionnellement de la cavité vaginale (0,1 à 2%). Le plus souvent il s'agit de : *Haemophilus influenzae* et *parainfluenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, méningocoque et autres *Neisseria*, *Branhamella*, *Capnocytophaga*.

### 3. L'évolution de la flore vaginale au cours de la vie

#### 3.1. Des premières semaines à la petite enfance

Lors de son développement *in utero*, le fœtus évolue dans un environnement stérile (Turovsky et al., 2011). Au cours de la grossesse, des œstrogènes sont transférés du sang maternel au sang fœtal et cela entraîne une accumulation de glycogène dans les cellules tapissent la muqueuse vaginale (Loizeau, 2012). La première exposition d'un nourrisson aux microorganismes a lieu au moment de l'accouchement lors du passage de la filière génitale puis, lors du contact avec les soignants et avec l'air environnant (Turovsky et al., 2011).

#### 3.2. Au moment de la puberté

La puberté est marquée par une hausse graduelle du taux d'œstrogène menant à l'épaississement de la muqueuse vaginale et à l'augmentation de la production du glycogène (Turovsky et al., 2011), s'accompagne de la colonisation progressive du vagin par une FV de la femme adulte (lactobacilles, germes anaérobies...etc.) (Tamboura, 2004).

Les lactobacilles redeviennent alors prédominants et le pH vaginal redevient acide. Ils endossent alors leur rôle de barrière et limitent la croissance des microorganismes potentiellement pathogène (Loizeau, 2012).

Ainsi les lactobacilles dégradent ce glycogène, produisent de l'acide lactique qui permet l'acidification du milieu (pH voisin de 4) qui est un facteur de protection car cela engendre une augmentation des bactéries acidophiles (*Lactobacillus*) et une diminution des bactéries basophiles (pathogène opportunistes) (Delalande, 2017).

#### 3.3. A la ménopause

Chez les femmes ménopausées, la muqueuse vaginale est atrophique, il y a une diminution de la charge en glycogène. Son pH redevient neutre et la muqueuse ne peut plus maintenir sa flore habituelle (Tamboura, 2004). La composition de la flore microbienne redevient alors identique à celles présente chez l'enfant (Sebtani, 2008).

## Chapitre II : Rôle protecteur de la flore de Doderlein

### 1. Taxonomie

Les espèces de *Lactobacillus* font partie du domaine des *Bacteria*, phylum des Firmicutes, famille des *Lactobacillaceae*, ordre des *Lactobacillales* et, la classe des *Bacilli* (Prescott et al., 2010).

### 2. Morphologie

Les lactobacilles sont des bâtonnets Gram positif qui produisent de l'acide lactique comme principale ou unique produit de fermentation, ne sporulent pas et ne sont habituellement pas mobile. Elles n'ont pas de cytochrome et obtient leur énergie de la phosphorylation au niveau de substrat plutôt que transfert d'électrons et de la phosphorylation oxydative pour cette énergie elles dépendent de la fermentation des sucres (Prescott et al., 2010).

### 3. Habitat

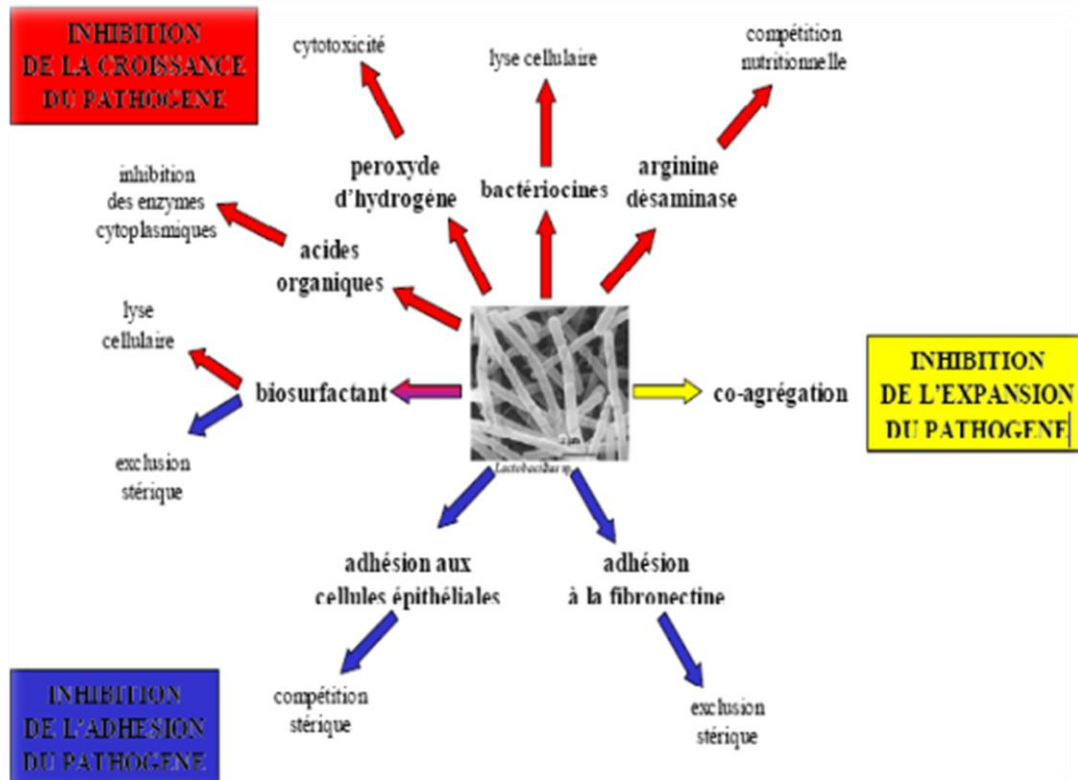
Les lactobacilles sont des bactéries ubiquistes présentes en quantités infimes sur les surfaces végétales mais elles s'y développent rapidement lorsque celles-ci sont abîmées. Ils colonisent aussi l'homme et les animaux. Chez la femme, *Lactobacillus jensenii*, *L. crispatus* et *L. gasseri* composent généralement la population dominante de la FV et assurent un rôle de protection vis-à-vis des infections. Les espèces les plus fréquentes trouvées en population sous-dominante dans la flore colique humaine sont : *L. ruminis*, *L. gasseri*, *L. reuteri* et *L. salivarius* (*L. acidophilus* chez le nouveau-né), alors que *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. rhamnosus* et *L. paracasei* colonisent les muqueuses buccale et rectale (Tailliez, 2004).

### 4. Caractères cultureux

Ce sont des organismes exigeants auxquels il faut fournir de multiple vitamines, acide aminé, purine et pyrimidine par ce que leur capacité biosynthétique est limité. On range habituellement les bactéries lactiques dont les anaérobies facultatifs mais certaines les considérant comme des anaérobies et anaérotolérant (Prescott et al., 2010).

### 5. Mécanisme des lactobacilles vis-à-vis des germes pathogènes

Pour une femme saine, les lactobacilles constituent l'essentiel de la flore et jouent un rôle protecteur vis-à-vis des microorganismes potentiellement pathogènes (Pastaud, 2013).



**Figure 02 :** Mécanismes des lactobacilles vaginaux pour inhiber les pathogènes (Sebtani, 2008).

## 5.1. Inhibition de la croissance du pathogène

### 5.1.1. Production d'acide lactique

La principale molécule responsable de l'acidification du vagin est l'acide lactique, qui est produit par les lactobacilles à partir du glycogène, mais le degré dépolymérisation en glucose de cette molécule, trop élevé, ne permet pas sa dégradation par les lactobacilles vaginaux dénués de la machinerie enzymatique adéquate. Ce n'est qu'après l'intervention d'une alpha amylase sécrétée par les cellules de l'épithélium vaginal, qui transforme le glycogène principalement en oligosaccharides (maltose, maltotriose, et maltotetraose).

L'acide lactique est produit à la fois par les cellules épithéliales sous forme de L-acide lactique et par les lactobacilles, principalement *L. crispatus*, qui produisent les deux formes racémiques L et D (Lepargneur, 2016).

D'autres acides organiques peuvent être produits par fermentation lactique comme l'acide acétique qui est dix fois moins concentré que l'acide lactique dans le milieu vaginal (Boskey et al., 2001).

### 5.1.2. Production de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

La production de peroxyde d'hydrogène un des mécanismes de défense les plus important pour lutter contre les microorganismes pathogènes par certains lactobacilles vaginaux

(**Martin et Suárez, 2010**), ces derniers ne possèdent pas d'hème et n'utilisent pas le système cytochrome pour l'oxydation terminale pendant le processus respiratoire mais une oxydase flavoprotéinique qui réduit l'oxygène en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

Certains pathogènes produisent une catalase qui rompt la molécule de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O et empêche ainsi la formation des métabolites oxydant actifs. L'activité de cette catalase est augmentée dans un environnement neutre et diminué en milieu acide (**Spurbeck et Arvidson, 2011**).

La toxicité du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est due au pouvoir oxydant de la molécule elle-même ou de ses métabolites (OH· et O<sub>2</sub><sup>-</sup>) produits par des agents réducteurs et des enzymes peroxydases qui sont présentes dans le fluide vaginal. Ces molécules peuvent agir sur les protéines (inactivation des enzymes cytoplasmiques), les lipides membranaires (augmentation de la perméabilité membranaire) et les acides nucléiques (induction de mutations de l'ADN). Par contre, l'autodestruction des lactobacilles et les lactocoques est évitée pour ceux possédant une NADH peroxydase qui transforme le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

La production de l'acide lactique et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont donc deux mécanismes de défense synergique et nécessaire pour inhiber les pathogènes. La seule production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'étant pas suffisamment protectrice (**Spurbeck et Arvidson, 2011**).

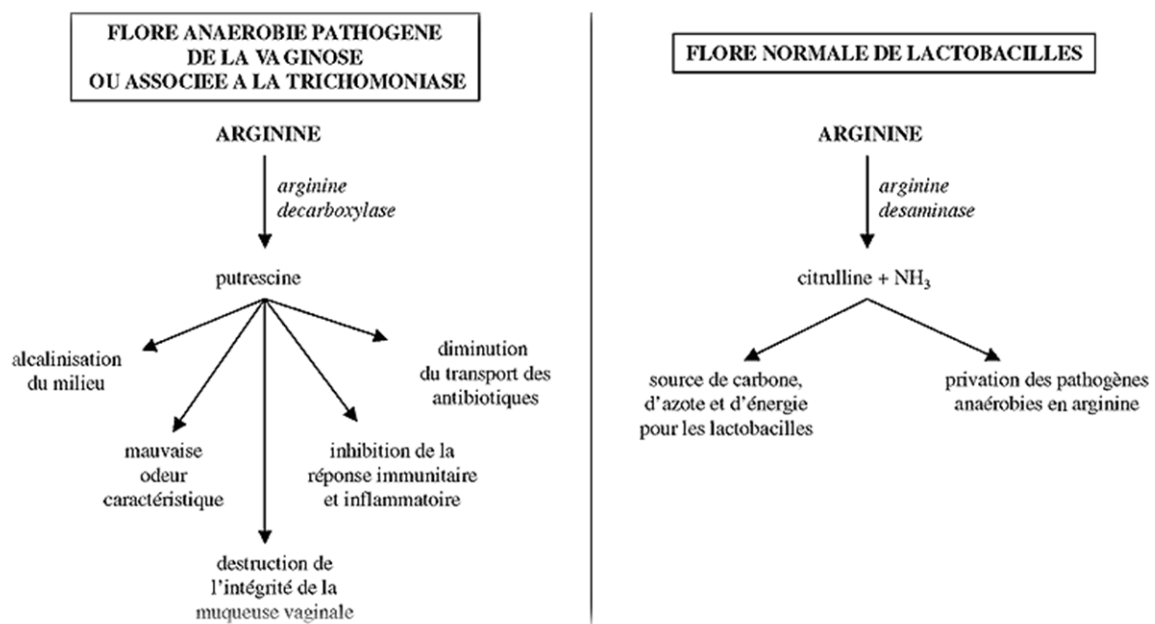
### 5.1.3. Production de bactériocines

Certains lactobacilles produisent des bactériocines et des bactériocines-like. Ce sont des substances protéiques qui possèdent une activité bactéricide et plus largement microbicide avec un spectre d'action plus ou moins large. Ces substances agissent en se fixant au niveau de récepteurs spécifiques sur la membrane des bactéries et entraînent alors la formation de pores qui déstabilisent l'équilibre de la bactérie et conduisent à sa mort (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

Il existe, en fonction des souches de lactobacilles, plusieurs types de bactériocines avec des activités et des cibles différentes. Par exemple : *L. fermentum* produit une bactériocine avec une activité fongicide spécifique dirigée contre *C. albicans* alors que *L. gasseri*, *L. crispatus* et *L. jensenii* produisent eux une bactériocine-like avec un spectre d'action beaucoup plus large qui serait capable d'inhiber à la fois *G. vaginalis*, *C. albicans* et la souche uropathogène *E. Coli*. Cependant, d'autres études menées sur ces trois mêmes souches de lactobacilles n'ont pas réussi à mettre en évidence cette propriété microbicide. Cela indique que les bactériocines ne sont pas produites de façon universelle par toutes les souches de lactobacilles (**Spurbeck et Arvidson, 2011**).

#### 5.1.4. Production de l'enzyme arginine désaminase

Les lactobacilles, possédant l'enzyme arginine désaminase, inhiberaient la croissance et la prolifération des bactéries anaérobies pathogènes associées à la vaginose : ils métabolisent l'arginine en citrulline et ammoniacque, et privent ainsi les pathogènes de cet acide aminé. Une étude sur différentes femmes traitées avec une souche de *L. brevis* ayant une forte activité arginine désaminase, a montré un net déclin de la concentration de polyamines vaginales ainsi qu'un rétablissement de l'équilibre de l'écosystème vaginal. Par ailleurs, l'utilisation de l'arginine influencerait la synthèse d'oxyde nitrique (médiateur de l'immunité) et minimiserait ainsi l'inflammation (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).



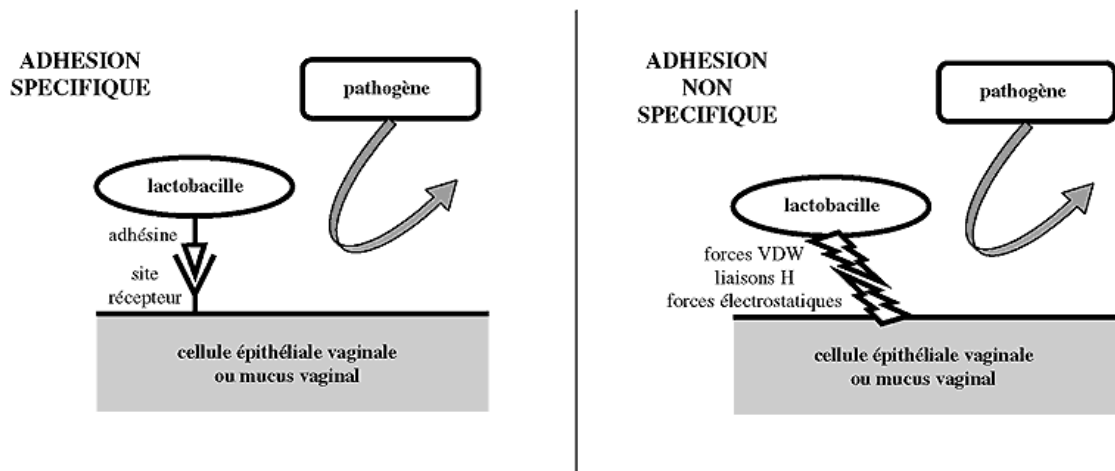
**Figure 03 :** Effets des lactobacilles possédant l'enzyme arginine désaminase (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

## 5.2. Inhibition de l'adhésion du pathogène

### 5.2.1. Adhésion aux cellules épithéliales vaginales

Les lactobacilles forment un biofilm tapissant la muqueuse vaginale et protègent ainsi le milieu contre l'agression de microorganismes responsables d'infections diverses en déployant différents mécanismes :

- Adhésion spécifique impliquant des structures externes des bactéries (les adhésines) et de l'épithélium (les sites récepteurs).
- Adhésion non spécifique basée sur différentes interactions physico-chimiques (force de Van Der Waals, forces électrostatiques, liaisons hydrogènes...) (**Tailliez, 2004**).



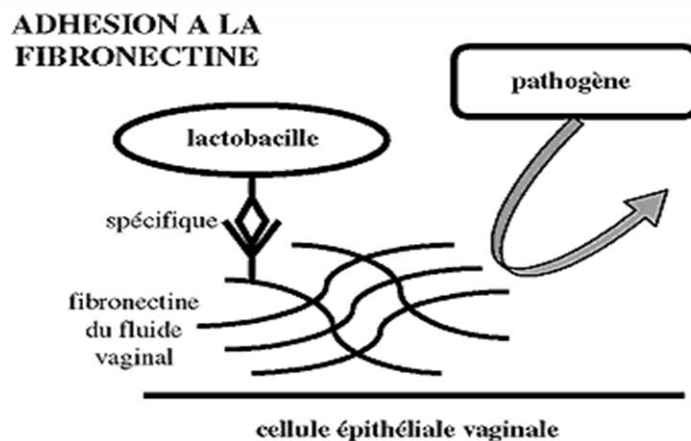
**Figure04** : Mécanismes impliqués dans les phénomènes d'adhésion (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

### 5.2.2. Adhésion à la fibronectine humaine

La fibronectine, glycoprotéine de poids moléculaire élevé, est présente :

- Sous forme fibrillaire dans la matrice extracellulaire qui recouvre les surfaces des cellules et des muqueuses.
- Sous forme soluble dans les fluides physiologiques comme par exemple le fluide vaginal.

Elle constitue un mécanisme supplémentaire d'adhérence. En effet, les lactobacilles se fixent sélectivement à cette molécule et empêchent ainsi la fixation des pathogènes par encombrement stérique. Cette adhérence est d'autant plus forte que le pH du milieu diminue jusqu'à pH 4 correspondant aux conditions vaginales normales (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).



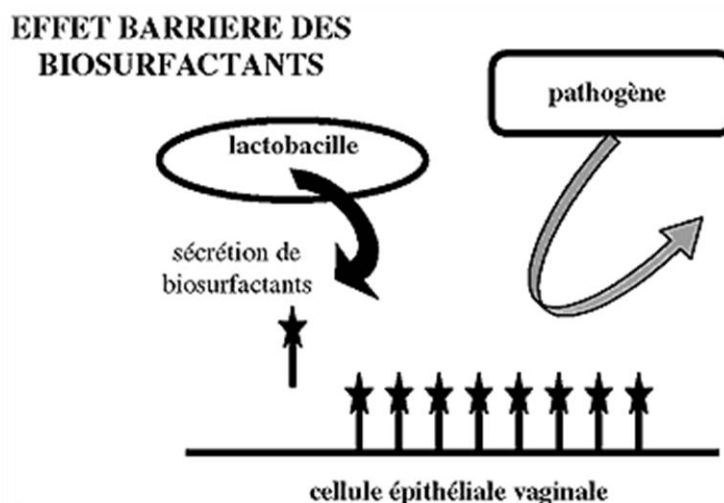
**Figure 05** : Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par adhésion des lactobacilles à la fibronectine (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

### 5.2.3. Production de biosurfactant

Certains lactobacilles sont capables de synthétiser des molécules jouant un rôle de biosurfactant à la surface de la muqueuse en agissant sur les tensions de surface, Ils participent à l'adhésion des bactéries qui les produisent et créent une barrière compétitive vis-à-vis de l'adhésion des pathogènes (**Rousseau, 2004**). Ces biosurfactants sont des molécules amphiphiles possédant à la fois un domaine hydrophile et un domaine hydrophobe. Ce sont surtout des glycolipides ou des lipopeptides (**Spurbeck et Arvidson, 2011**).

Ces composés possèdent différentes propriétés :

- Ils émulsionnent les sources carbonées hydrophobes et favorisent ainsi la croissance des lactobacilles.
- Ils participent à l'adhésion des bactéries qui les produisent et créent une barrière compétitive vis-à-vis de l'adhésion des pathogènes.
- Ils possèdent une activité antimicrobienne avec notamment des effets antibiotiques, antifongiques et antiviraux (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).



**Figure 06 :** Mécanisme d'inhibition de l'adhésion des pathogènes par la production des biosurfactants (**Lepargneur et Rousseau, 2002**).

### 5.3. Inhibition de l'expansion du pathogène

La Co-agrégation est une interaction entre deux microorganismes de souches ou d'espèces différentes (**Echakour, 2018**). Dans le milieu vaginal certains lactobacilles sont capables de s'auto-agrégier entre eux mais peuvent aussi Co-agrégier avec des microorganismes pathogènes (**Ocana et Nader-Macias, 2002**). Ils empêchent l'accès des pathogènes aux récepteurs des cellules épithéliales et leur adhérence à la muqueuse. Ils créent ainsi un

*Partie bibliographique*

microenvironnement particulier autour du pathogène avec une concentration plus importante des substances inhibitrices dirigées contre celui-ci (**Spurbeck et Arvidson, 2011**).



## **Chapitre 3 : Déséquilibre de la microflore vaginale**

### **1. Les facteurs de déséquilibre**

Le vagin est composé d'un ensemble de germes protecteurs, mais certains facteurs peuvent rompre l'équilibre naturel entre ces micro-organismes. Des germes pathogènes peuvent alors se développer, provoquant ainsi des infections vaginales (**Lainé, 2017**).

Les facteurs de déséquilibre sont multiples :

#### **1.1. Hormonales**

Au cours de période de la grossesse, les taux d'œstrogènes et de glycogène disponibles au niveau vaginal sont supérieurs à la normale et le système immunitaire est moins performant (**Maleeha et al., 2008**), l'imprégnation oestrogénique au début de cycle est plus basse et couplée avec la présence abondante de sang dû aux menstruations. Ces deux faits entraînent une diminution de la quantité de lactobacilles ainsi qu'une légère augmentation du pH vaginal (**Turovskiy et al., 2011**).

L'utilisation de contraceptifs avec des taux très faibles ou nuls d'éthinylestradiol provoque un état de hypo-estrogénie relative, ce qui perturbe la production de glycogène et donc d'acide lactique. Par conséquent, ces femmes sont particulièrement sensibles aux altérations de l'écosystème vaginal, ce qui entraîne une gêne (**Güzel et al., 2013**).

#### **1.2. Physiques**

Dues à certaines habitudes sexuelles, une mauvaise hygiène intime, l'utilisation des spermicides, de diaphragmes, de diaphragmes intra-utérins et parfois de tampons (**Sebtani, 2008**).

#### **1.3. Pathologiques**

Dans le cas de patients diabétiques où l'hyperglycémie a un impact sur l'immunité en inhibant l'action des PN neutrophiles et en diminuant leur capacité à phagocyter les agents pathogènes ou immunodéficiences qui affaiblit les résistances de l'organisme et favorise les infections vaginales (**Amouri, 2010**).

#### **1.4. Iatrogène**

Induit par des traitements, antibiotiques, corticoïdes ou immunosuppresseur, par la prise d'ovules, l'utilisation d'antiseptique, la radiothérapie et par des interventions chirurgicales (**Marion, 2018**).

#### **1.5. Stress**

Le stress peut affecter la sensibilité aux VB par une voie immunitaire, où les facteurs de stress chroniques conduisent à un dysfonctionnement immunitaire et à une régulation

négative, qui altèrent la croissance des lactobacilles et la production d'acide lactique (**Paul et al., 2008**).

## 2. Les leucorrhées

Les leucorrhées sont des écoulements non sanglants provenant de l'appareil génital féminin. Elles peuvent être physiologique par sécrétion endocervicale (glaires cervicales) et desquamation vaginale ou pathologique : Témoin d'une infection (**Blandine et Xavier, 2017**).

**Tableau 01** : La différence entre Leucorrhée physiologique et pathologique (**Blandine et Xavier, 2017**).

	Leucorrhée physiologique	Leucorrhée pathologique
Caractéristique de l'écoulement	Blanche / Inodore.	Aspect anormal.
Signes fonctionnels associés	Aucun.	Prurit vulvaire, brûlure, dyspareunie, douleur Pelvienne, signes fonctionnels urinaires...
Changement au cours du cycle	Sécrétion en phase pré-ovulatoire.	Non.
Signes cliniques chez le partenaire	Aucun.	Parfois (urétrite, balanite).
Résultat	-PN rares. -Flore de Doderlein abondante. -Aucun germe spécifique mis en évidence.	-Nombreux PN altérés. -Flore de Doderlein rare ou absente. -Mise en évidence de l'agent pathogène.

## 3. Les infections vaginales

La rupture de l'équilibre de la FV, conduit à des infections génitales chez la femme qui se manifestent par diverses pathologies (**Menard et Bretelle, 2008**).

On distingue :

- Les infections génitales basses (IGB) qui affectent le vagin, l'exocol et la vulve.
- Les infections génitales hautes (IGH) qui concernent l'endocol utérin, l'endomètre et les trompes utérines.

### 3.1. Les infections génitales basses (IGB)

#### 3.1.1. Vaginose bactérienne

Elle est connue comme étant la cause la plus fréquente de prurit vulvaire, de dyspareunies, d'une mal-odeur vaginale accentuée par les rapports ou les règles (**Le Blanc, 2009**). Elle est caractérisée par un déséquilibre de l'écosystème vaginal, c'est-à-dire le remplacement d'un microbiote vaginal « *Lactobacillus* dominant » par un mélange variable de bactéries anaérobies strictes et facultatives (**Nasioudis et al., 2016**).

#### 3.1.2. Mycose vaginale

Il s'agit d'un déséquilibre de la FV avec prolifération d'une levure commensale (**Bekheira, 2018**), Caractérisé par les signes cliniques les plus courants sont : brûlures en fin de miction (**Bekheira, 2018**), lésions érythémateuses et œdémateuse avec prurit, puis apparait un enduit blanchâtre des leucorrhées souvent abondante blanc-jaunâtre (**Aractingi et al., 2008**). En effet 15 à 20 % des femmes sont porteuses naturellement au niveau du vagin de *Candida albicans*. Sa prolifération, c'est-à-dire son passage à l'état pathogène, serait conditionnée par l'apparition de circonstances favorisantes qui pour certaines modifient le pH vaginal (**Bekheira, 2018**).

Les levures en cause sont : *C. albicans* (85 à 90% des cas), *C. glabrata* (femme enceinte), *C. tropicalis* et plus rarement *C. balanitis* (**Bekheira, 2018**).

#### 3.1.3. Vulvo-vaginite à *Trichomonas vaginalis*

C'est une infection sexuellement transmissible (IST) due à un protozoaire flagellé, *Trichomonas vaginalis*. C'est le seul pathogène vaginal capable d'entraîner une inflammation de la muqueuse vaginale chez la femme pubère non ménopausée. Après une incubation de 4 à 28 jours la vaginite à *Trichomonas* se manifeste essentiellement par trois symptômes : les brûlures, les prurits vulvaires et une leucorrhée verdâtre, mousseuse, fluide, et d'abondance parfois considérable, légèrement nauséabonde (**Bekheira, 2018**).

#### 3.1.4. Vaginite

La vaginite est une inflammation des parois vaginales qui peut s'étendre également à l'extérieur au niveau de la vulve en donnant une vulvo-vaginite. Les vaginites sont le plus souvent d'origine infectieuse, mais d'autres causes sont possibles (**Sebtani, 2008**).

#### 3.1.5. Cervicite

Les cervicites correspondent aux infections, essentiellement bactériennes, du canal endocervical. Elles sont fréquentes et causées essentiellement par un germe sexuellement transmis (*Chlamydia trachomatis* CT, *Neisseria gonorrhoeae* NG, *Mycoplasma genitalium* MG) ou par un pathogène issu de la FV.

Les cervicites sont souvent asymptomatiques. Elles peuvent constituer le point de départ ou accompagner une IGH (Judlin et al., 2012).

### 3.2. Les infections génitales hautes (IGH)

Les infections hautes de l'appareil génital (IGH) de la femme regroupent les différentes infections utéro-annexielles compliquées ou non (Laurie, 2017), se produisent quand des microorganismes progressent par voie ascendante et infectent l'endocol utérin puis l'endomètre et enfin les trompes utérines, les germes peuvent continuer leur progression dans les trompes utérines jusqu'au pavillon (Bekheira, 2018).

Ces IGH regroupe plusieurs pathologies telles que endométrites, salpingites, abcès tubo-ovariens (ATO), pelvipéritonites d'origine génitale :

#### 3.2.1. Endométrites

L'endométrite est une maladie inflammatoire localisée au niveau de la muqueuse utérine, siège de l'implantation embryonnaire lors d'une grossesse. Cette affection est le plus souvent liée à un germe d'origine bactérienne persistant dans le temps (Laurie, 2017). Elle souvent asymptomatique, les symptômes les plus répandus sont :

- Les douleurs.
- Saignements cycliques.
- Diarrhée ou constipation, troubles digestifs.
- Brûlures urinaires, sang dans les urines.
- Fatigue.
- Infertilité (Laurie, 2017).

#### 3.2.2. Salpingites

Les salpingites sont des infections aiguës d'une ou des deux des trompes (Amélie et Xavier, 2019) peut se manifester par des douleurs assez violentes, de la fièvre et des pertes (Barillier, 2007).

De nombreux germes peuvent être incriminés dans la salpingite mais seuls le *Chlamydia* et les Gonocoques qui sont des MST (Barillier, 2007).

#### 3.2.3. Abcès tubo-ovarien (ATO)

Les abcès tubo-ovariens (ATO) sont le plus souvent trouvés chez les femmes en période d'activité génitale. L'ATO doit être suspecte dans un contexte d'IGH en cas de symptomatologie douloureuse sévère associée à la présence de signes généraux et la palpation d'une masse annexielle au toucher vaginal (TV) (Graesslin et al., 2019).

#### **3.2.4. Pelvipéritonites d'origine génitale**

La pelvipéritonite réalise une inflammation du péritoine pelvien par diffusion d'une infection cervico-vaginale. Les germes habituellement en cause sont *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* et accessoirement les aérobies et anaérobies de la FV (**Diop et al., 2017**).

# *Partie Pratique*

## *Partie pratique*

### **1. Objectif**

Notre travail vise à étudier les caractéristiques de tous types de microorganismes isolés de la cavité vaginale, en particulier les lactobacilles et la mise en évidence des bactéries pathogènes spécifique responsable de processus infectieux de la femme, et la révélation de déséquilibre de la microflore vaginale.

### **2. Cadre de l'étude**

Notre prospection a été réalisée au niveau de deux laboratoires : le laboratoire de microbiologie appliqué de la faculté des sciences exactes de la nature et de la vie (université de Tébéssa) et le laboratoire de bactériologie de l'EPSP (4 mars). Ce modeste travail s'est déroulé en deux mois (février, mars 2020).

### **3. Matériels et méthodes**

#### **3.1. Matériels**

##### **3.1.1. Matériels biologiques**

##### **3.1.1.1. Choix des patientes**

Les prélèvements effectués proviennent des femmes en activité sexuelle, menstruées de 26-55ans, la majorité présente des signes d'une infection génitale qui peuvent être des pertes blanchâtres et/ou des démangeaisons (prurit) ainsi qu'une irritation vaginale et des douleurs possibles à la miction et pendant les rapports sexuels (dyspareunie).

Nos prélèvements étaient choisis au hasard sans savoir l'état clinique de la femme.

**Tableau02** : Récapitulatif des patientes et l'âge de chaque une (F : femme).

<b>Code de prélèvement</b>	<b>Numéro original</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
Prélèvement 01	478	F	55
Prélèvement 02	474	F	29
Prélèvement 03	466	F	53
Prélèvement 04	473	F	51
Prélèvement 05	482	F	34
Prélèvement 06	486	F	26
Prélèvement07	483	F	55

## Partie pratique

Prélèvement08	492	F	41
Prélèvement09	498	F	35
Prélèvement10	499	F	29
Prélèvement11	501	F	53
Prélèvement12	503	F	42
Prélèvement 13	505	F	30

### 3.1.2. Matériels non biologiques

#### 3.1.2.1. Appareillages

Agitateur électrique, Autoclave, Bain marie, Balance analytique, étuve réglée à 37°C, Réfrigérateur, Microscope optique, plaque chauffante.

#### 3.1.2.2. Verreries

Bécher, éprouvette, des flacons en verre de 250 ml, pipettes graduées, pipettes pasteur, une jarre d'anaérobiose, Erlenmeyer, Tubes à essai stérile, lame et lamelles.

#### 3.1.2.3. Autres matériels

Anse de platine, Bec bunsen, Boîtes de Petrie, écouvillon, pied à coulisse, pince, portoir de tube, spatule, tube Eppendorf.

#### 3.1.2.4. Milieux de culture

Gélose nutritive, Gélose Sabouraud, Gélose (Chapman, Mac Conkey, cétrimide, gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) liquide et solide modifié, Gélose au sang cuit, gélose au sang frais, bouillon nutritif, Chroma agar *Candida* (**Annexe 01**).

#### 3.1.2.5. Réactifs et autres produits

- Les réactifs spécifiques pour la révélation des réactions du système API 20E sont : Réactif de Kovacs, réactif de vogue Proskauer (VP1 et VP2) et réactif TDA.
- Les colorants de Gram (violet de gentiane, Lugol, fuchsine).
- L'eau oxygénée, huile d'immersion, huile de paraffine, alcool, bleu de méthylène.



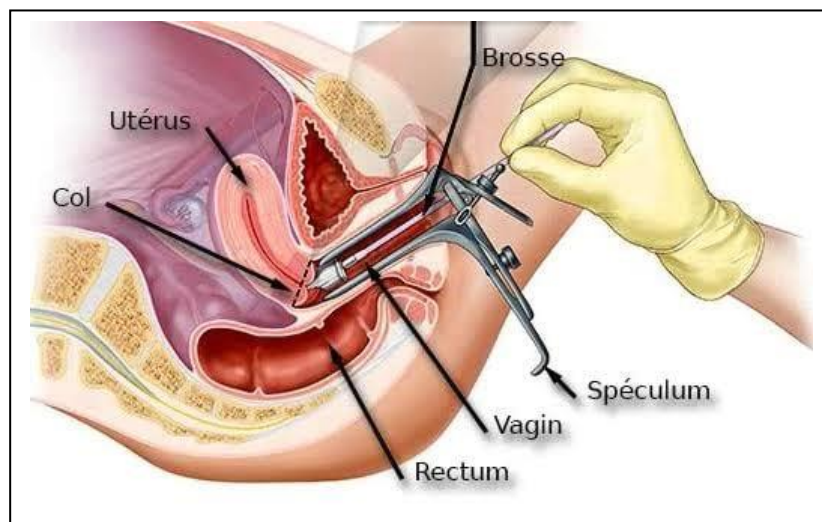
## Partie pratique

### 3.2. Méthodes

#### 3.2.1. Protocol de prélèvements

Le prélèvement est effectué par la sage-femme ou la gynécologue sous spéculum stérile (**Figure 07**), après avoir répandu aux conditions suivantes : Pas d'antibiothérapie, absence de toilette intime, ni introduction des produits intravaginaux (**Kerangal, 1999**). Un écouvillon stérile est introduit dans l'exocol en effectuant un mouvement rotatoire.

Le site de prélèvement doit être déterminé qu'en fonction d'un diagnostic médicale précis au préalable et d'une manière à éviter toute contamination par la partie basse de l'appareil génital.



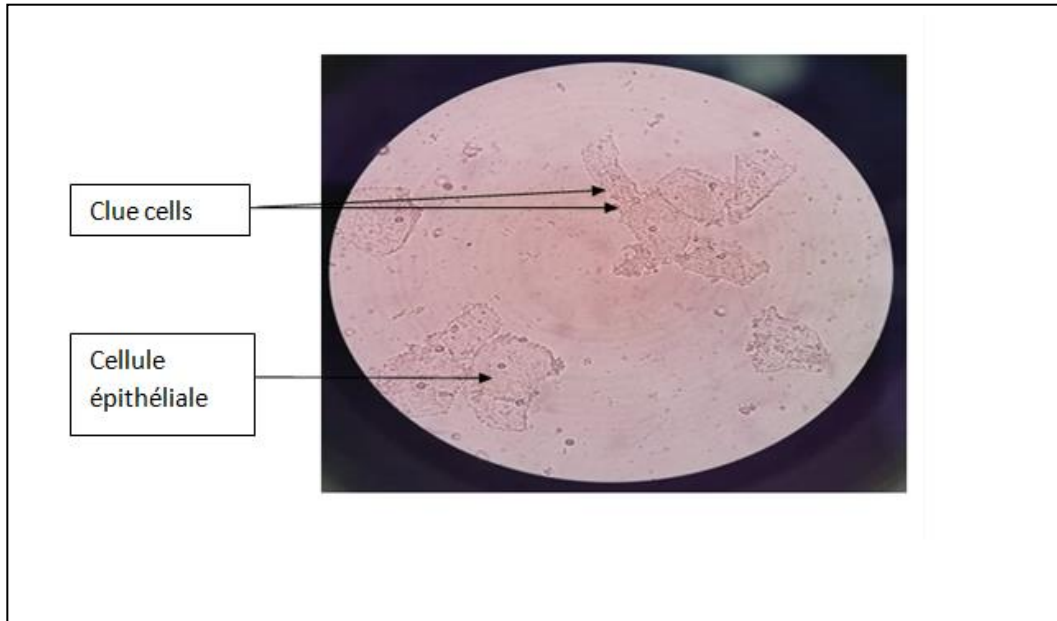
**Figure 07** : Méthode d'un prélèvement sous spéculum (**Terese, 2009**).

#### 3.2.2. Transport

Les prélèvements sont transportés rapidement au laboratoire dans un glacier (dans le bouillon nutritif après une incubation de 24h au laboratoire initiale).

#### 3.2.3. Examen microscopique

La réalisation d'un état frais basé sur l'étalement de l'écouvillon sur une lame puis l'observation sous microscope à l'objectif (x40), elle permet de donner une idée sur la mobilité et la forme des microorganismes ainsi que la présence des levures, cellules épithéliales, PN et des globules rouges, aussi d'apprécier l'importance de la flore de Doderlein et d'estimer la présence de *Gardnerella vaginalis* qui est accompagné par la présence des cellules indicatrices (*clue cells*) (**Figure 08**).



**Figure 08** : Aspect microscopique des cellules indicatrices (*clue cells*).

### **3.2.4. Mise en culture et isolement**

L'isolement des microorganismes se fait par la mise en culture sur différents milieux sélectifs.

#### **3.2.4.1. Préparation des milieux**

- ✓ Faire fondre la gélose au bain marie à 100°C ;
- ✓ Laisser refroidir à 45°C ;
- ✓ Couler les milieux dans les boites de Pétri.

#### **3.2.4.2. Technique d'ensemencement**

Dans des boites de Petri contenant chacune un des milieux sélectifs pour les germes recherchés, on dépose quelques gouttes du prélèvement. L'ensemencement est réalisé avec une anse de platine par la méthode de stries pour obtenir une souche pure et sur tout en respectant les précautions de stérilisation, puis nous incubons les boites dans une étuve.

- L'incubation des milieux : Mac Conkey, Chapman, Cétrimide et Sabouraud se fait à 37°C pendant 18 à 24h.
- Pour les géloses au sang cuit et MRS, l'incubation se fait à 37°C pendant 72h, en utilisant la jarre à bougie pour créer l'anaérobiose.

## *Partie pratique*

### **3.2.5. Examen macroscopique**

Après l'incubation des boîtes de Pétri ensemencées, l'examen macroscopique des colonies sur les différents milieux (le diamètre, la couleur, le contour, l'aspect, ...etc.) permet d'apprécier le type de microorganisme présents sur le milieu.

### **3.2.6. Examen microscopique**

#### **3.2.6.1. Coloration de Gram**

##### **Principe**

L'examen de la coloration de Gram permet de définir le type morphologique de la bactérie, basée sur la structure de la paroi en particulier les Gram positifs, qui ont une constitution en lipides supérieure à celle des Gram négatifs.

Selon la technique décrite par (**Figarella et al., 2004**) :

- ✓ Etaler une goutte de la suspension bactérienne sur une lame ;
  - ✓ On passe la lame dans la flamme du bec bunsen pour fixer le frottis ;
  - ✓ Ensuite, on recouvre le frottis par la solution Violet de Gentiane pendant 1min ;
  - ✓ Après avoir lavé à l'eau, le frottis est recouvert de Lugol pendant 1min puis on rince ;
  - ✓ On décolore à l'alcool (70°), on le laissant coulé goutte à goutte sur le frottis inclinée ;
  - ✓ On rince à l'eau et on recouvre la lame avec la Fuchsine diluée et on laisse 1min ;
  - ✓ La lame est lavée et séchée.
- On examine la lame au microscope à l'objectif (x100) après avoir ajouté l'huile d'immersion.

#### **3.2.6.2. Coloration au bleu de méthylène**

C'est une coloration simple et rapide permet d'apprécier la morphologie des bactéries et leur mode de regroupement, aussi pour faire la différenciation entre une bactérie et une levure après une mise en culture.

## *Partie pratique*

### **3.2.7. Repiquage et conservation**

Une série de repiquage est effectuée afin d'obtenir une culture pure des colonies caractéristiques et bien isolées, pour l'identification.

Les souches pures sont conservées au froid à 4°C pour l'identification et l'antibiogramme, le milieu additionné de glycérol (10 à 20% de concentration final).

### **3.2.8. Identification biochimique des souches isolées**

#### **3.2.8.1. Identifications des lactobacilles**

##### ➤ **Milieu sélectif**

MRS modifié est utilisé pour l'isolement des lactobacilles, il contient deux inhibiteurs de nombreux microorganismes : l'acétate de sodium et le citrate d'ammonium.

Dans le MRS additionnée de vert de bromocrésol (**Annexe 02**), la fermentation de lactose se traduit par une couleur jaune.

##### ➤ **Test de catalase**

Sur une lame propre et bien désinfectée, déposer une goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes, puis dissoudre la colonie. Une souche est qualifiée catalase positive lors d'un dégagement gazeux immédiat des bulles.

##### ➤ **Test d'homo et d'hétéro- fermentation**

Ce test permet de différencier les bactéries hétéro-fermentaire (qui produisent le CO<sub>2</sub>) des bactéries homofermentaires.

- ✓ Prendre un tube contenant une cloche ;
- ✓ Ajouter dans ce tube 10 ml de milieu MRS liquide ;
- ✓ Ensemencer le milieu par la suspension bactérienne à étudier ;
- ✓ Après incubation à 37 °C pendant 48h on fait la lecture ;

La formation de CO<sub>2</sub> au niveau de la cloche indique la présence de bactérie hétéro-fermentaire.

## *Partie pratique*

### **3.2.8.2. Identification des Entérobactéries**

#### ➤ **Milieu sélectif**

Gélose Mac Conkey est utilisé pour isoler les Entérobactéries, la sélectivité est basée sur l'action conjuguée des sels biliaires (inhibition des bactéries non entériques) et du cristal violet (inhibition des Cocci à Gram+).

La différenciation des Entérobactéries est basée sur leur capacité à fermenté ou non le lactose.

#### ➤ **Le système API 20E** : La galerie Api 20E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif (**Bio Mérieux**).

### **Principe**

La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux.

La réaction produite pendant l'incubation (18-24h à 37°C) se traduit par des virages colorés spontanés, ensuite révéler les tests nécessitant l'addition de réactif : Test TDA, IND, VP, nitrate réductase.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

### **3.2.8.3. Identification des Staphylocoques**

#### ➤ **Milieu sélectif**

Gélose Chapman est un milieu de choix pour l'isolement des *Staphylococcus* et d'autres germes halophiles tels que *Micrococcus* et *Enterococcus* par la présence d'une forte concentration en Na Cl qui assurent le pouvoir sélectif.

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du mannitol comme source de carbone et d'énergie, grâce à un indicateur coloré de pH (le rouge de phénol). Si le milieu reste rouge les colonies sont mannitol -, Si le milieu devient jaune les colonies sont mannitol +.

L'identification des staphylocoques basé sur :

#### ➤ **Test de catalase**

## ***Partie pratique***

### **➤ Test de staphylocoagulase**

A partir d'un milieu Chapman déjà ensemencé, prendre une colonie et mettre dans un tube contenant le plasma (0.5 ml), agiter et porter au bain marie à 37°C.

La lecture après au moins 3h, la présence de coagulase se manifeste par formation du coagulum (Djelouat, 1990).

### **3.2.8.4. Identifications des *Pseudomonas***

#### **➤ Milieu sélectif**

La gélose au cétrimide est utilisée pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique), le cétrimide inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes.

*Pseudomonas aeruginosa* colore dans ce milieu en bleu-vert par la production de pyocyanine, qui est favorisée par la présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium.

### **3.2.8.5. Identifications des *Neisseria gonorrhoeae***

#### **➤ Milieu sélectif**

Pour faire identifier la présence de NG, on a ensemencé des prélèvements vaginaux dans un milieu gélose au sang cuit (Annexe 02) et incubé à 37°C en anaérobiose. Après 24 à 48h, des colonies typiques vont apparaître, elles ont 0,5-1 mm de diamètre, sont lisses plates et peuvent prendre un aspect blanchâtre ou grisâtre, transparent ou opaque, à bords réguliers ou irréguliers.

### **3.2.8.6. Identifications des *Gardnerella vaginalis***

La *Gardnerella vaginalis* est une bactérie naturellement présente dans le vagin. Mais pour diverses raisons, elle peut proliférer et causer une vaginose, elle est typiquement accompagnée de *Clue cells* (cellules épithéliales tapissées d'un grand nombre de bactéries). La coloration apparaît Gram négatif ou Gram positif ou Gram variable.

Pour isoler *Gardnerella vaginalis*, l'ensemencement des prélèvements vaginaux se fait dans un milieu gélose au sang frais pendant 72h à 37°C en anaérobiose.

### **3.2.8.7. Identification des levures**

➤ **Milieu sélectif**

La gélose Sabouraud permet la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures.

➤ **Milieu d'orientation**

L'utilisation des milieux chromogènes facilite l'identification et la différenciation des espèces.

**Chrom-agar Candida** : est un milieu sélectif et différentiel utilisé pour l'identification des levures après isolement dans le Sabouraud. L'utilisation de substrats chromogènes dans ce milieu, permet une coloration différente de *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei* adéquates pour leur identification rapide (**Becton, 2014**).

## Résultats et discussion

### 4. Résultats et discussion

- A partir de cette étude, les résultats obtenus sont analysés comme suit :

Les résultats de la mise en culture et de la coloration de Gram des microorganismes isolées à partir des 13 prélèvements dont 03 prélèvements non déterminé (**Tableau 02**), montrent une répartition hétérogène des microorganismes pour la majorité des prélèvements analysés (**Tableau 03**).

**Tableau 03** : Résultat de la mise en culture et de la coloration de Gram (après repiquage).

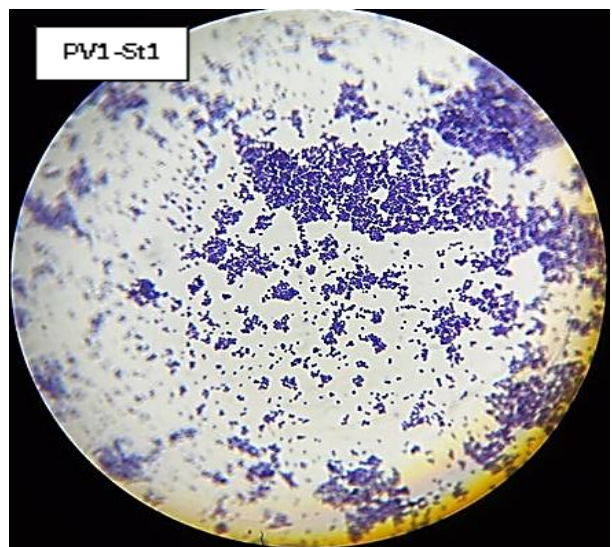
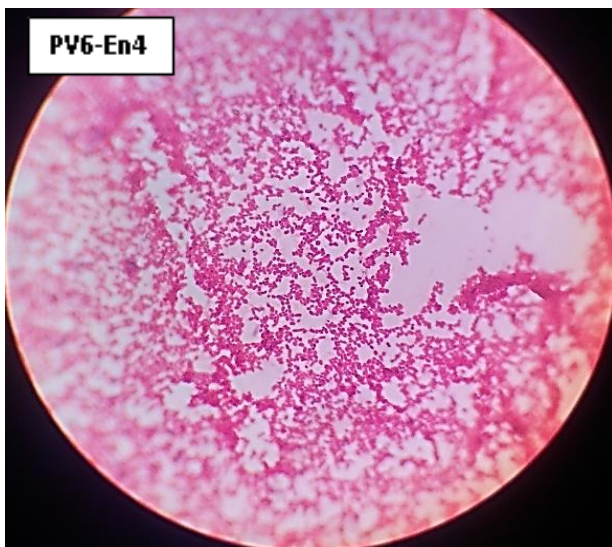
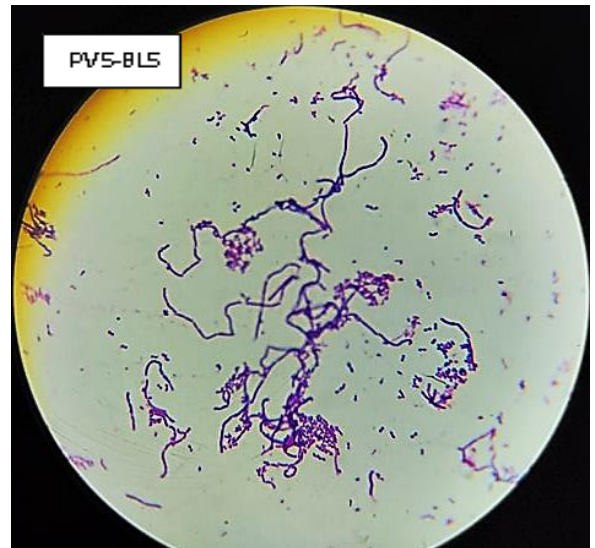
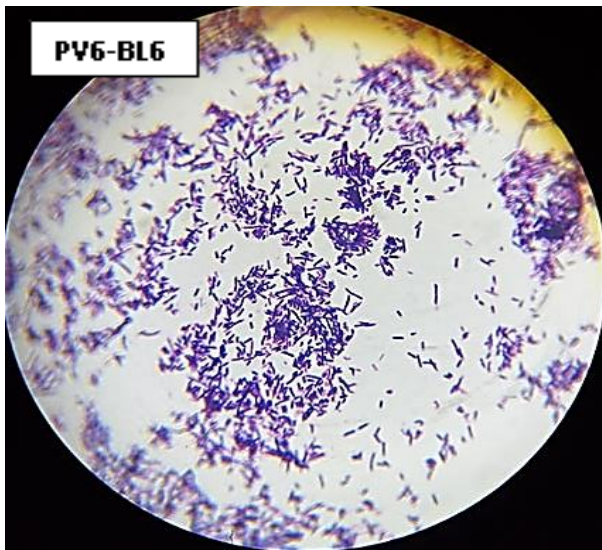
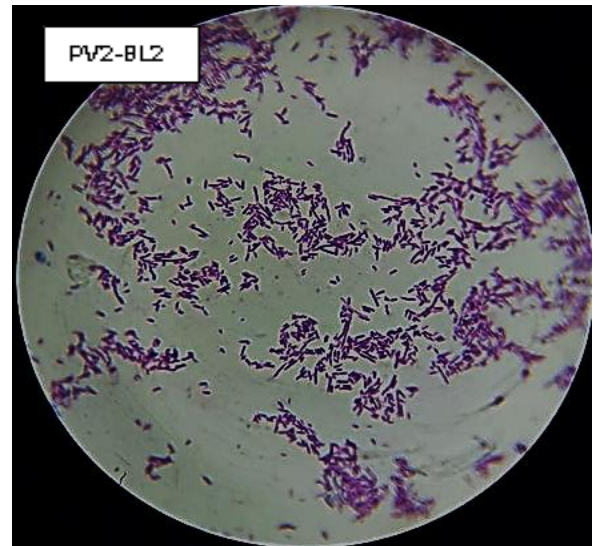
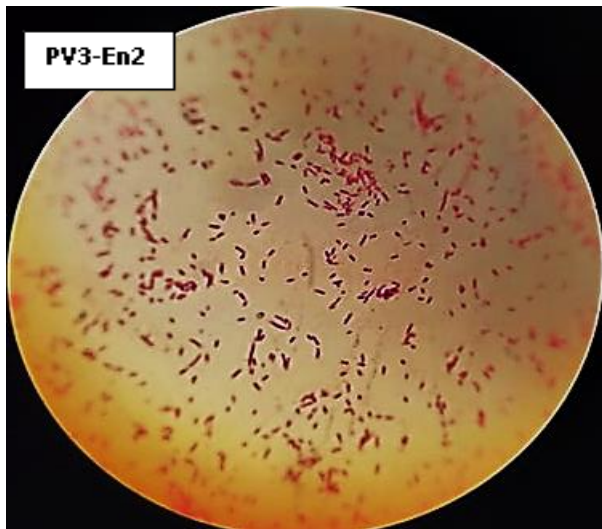
N ° PV	Chapman	Mac Conkey	Gélose au sang cuit	MRS	Cétrimide	Sabouraud
01	Petites colonies jaunes, Man+ CG+	Petites colonies, matte, jaune Lac+ CBG -	Colonies dorées, bombées, visqueuses CBG-	Colonies blanches à centre vert opaque Lac+, CBG+	Colonies blanchâtres brillantes, BG-	Petites colonies blanches, brillantes
02	Absence de culture	Absence de culture	Grande colonies lisses doré DCG+	Petites colonies, vert clair, bombées, brillantes, Lac+, CBG+	Absence de culture	Grandes colonies blanches, brillantes
03	Petites colonies jaunes Man+ CG+	Grandes colonies bombées Lac+ CBG-	Colonies moyennes blanches bombés CBG-	Colonies blanches à centre vert, lac+ BG+	Absence de culture	Absence de culture
04	Petites colonies jaunes Man+ CG+	Grandes colonies bombées Lac+ BG-	Colonies moyennes grisâtres CBG-	Colonies blanches à centre vert Lac+ CG+	Absence de culture	Absence de culture
05	Petites colonies jaunes Man+ CG+	Absence de culture	Petites colonies blanches, brillantes et bombé CG+	Colonies blanches à centre vert Matte Lac+ BG+	Absence de culture	Absence de culture



**Tableau 03 : (suite)**

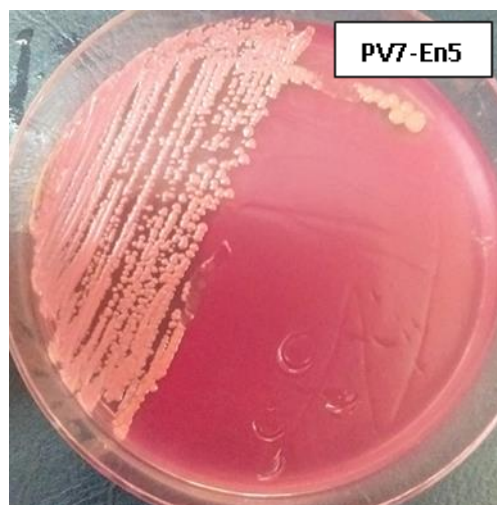
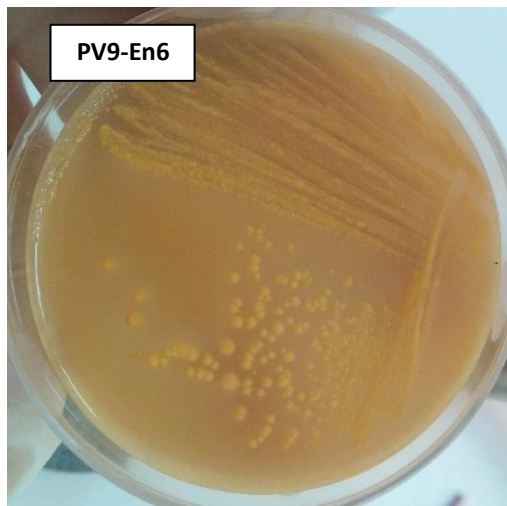
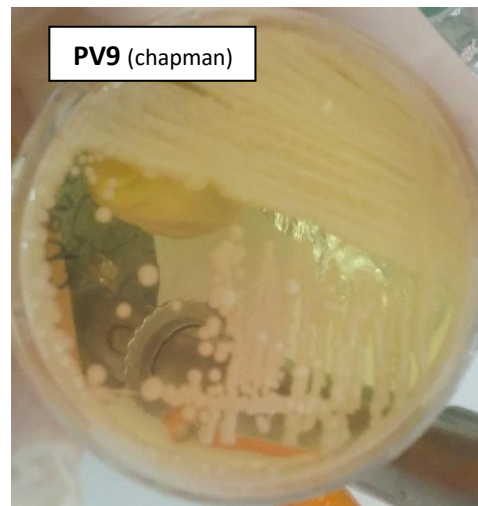
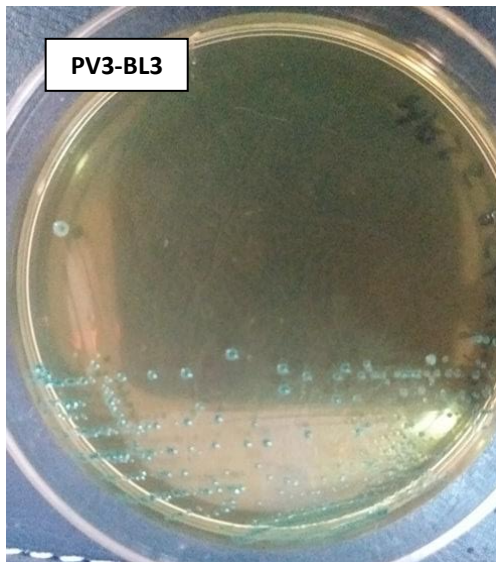
06	Petites colonies jaunes Man+ CG+	Petites colonies blanches Lac + CBG-	Petite colonie blanche et bombé CG+	Des colonies blanches à centre vert bombées Lac+ BG+	Colonies blanchâtres brillantent CBG-	Colonies moyennes blanches et matte
07	Petites colonies jaunes Man+ CG+	Petites colonies matte, rose Lac- CBG-	Colonies moyennes Grise CBG-	Des colonies vertes bombées Lac+ CBG+	Absence de culture	Absence de culture
08	Colonies moyennes, matte, doré, aplaté, Man+ CG+ en amas	Absence de culture	Colonies moyennes, bombées, brillantes, grisâtre. CBG+	Petites colonies, vert clair, matte, Lac+ CBG+	Absence de culture	Petites colonies, blanches, bombées.
09	Absence de culture	Colonies moyennes, bombées, brillantes BG-	Colonies moyennes, blanches, bombées, brillantes. CBG+	Des petites colonies, vert clair, bombées, brillantes, Lac+, CBG+	Petites colonies, blanches, brillantes. BG-	Colonies moyennes, irrégulier, matte, doré bombées.
10	Colonies moyennes, bombées, brillantes, doré Man- CG+	Absence de culture	Colonies moyennes, irrégulier, matte, grisâtre, aplaties. CBG+	Petites colonies, vert foncé, lac-, brillantes, bombées CG+  Petites colonies, vert clair, matte bombées, lac-, CBG+	Absence de culture	Absence de culture

*Résultats et discussion*



**Planche 01** : Photos d'observation sous microscope optique (x100) après coloration de gram.

*Résultats et discussion*



**Planche 02** : Photos d'observation macroscopique des quelques isolats.

## Résultats et discussion

**Tableau 04** : Distribution des microorganismes selon la morphologie et le type de Gram.

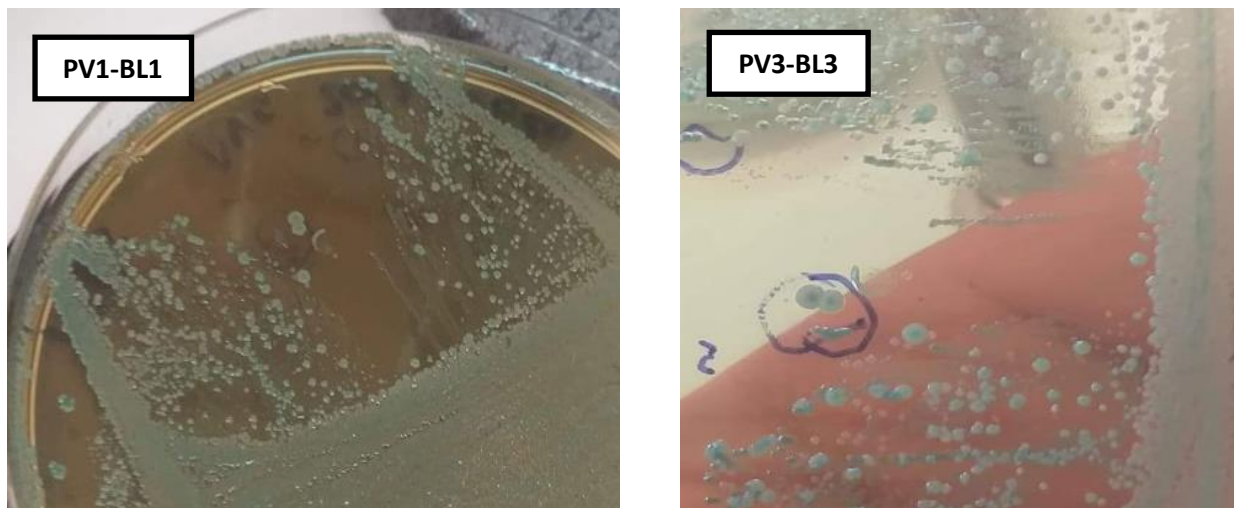
Aspect microscopique	Nombre	Pourcentage
BG-	06	60%
BG+	09	90%
CG+	09	90%
Levures	05	50%

Les résultats obtenus après la coloration de Gram révèlent une prédominance des Cocci Gram positives et les bacilles Gram positives qui sont représentés dans 09 prélèvements correspondant à 90%. Les Bacille Gram négatives sont présents avec un pourcentage de 60% et les levures à 50%.

### 4.1. Identification des lactobacilles

#### 4.1.1 Aspect macroscopique

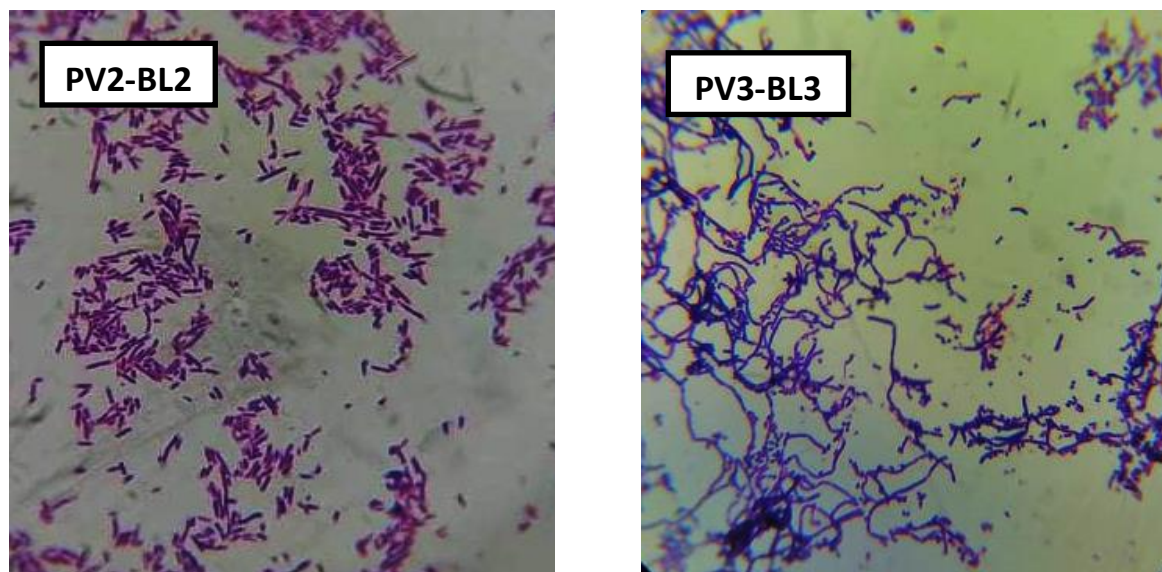
Après l'isolement des prélèvements sur le milieu MRS solide modifié, les résultats obtenus ont montré que la majorité des colonies sont : des colonies blanches à centre vert, aussi des colonies vert clair ou foncé (**Figure 09**).



**Figure 09** : Aspect macroscopique des lactobacilles sur MRS solide.

#### 4.1.2. Aspects microscopiques

L'observation microscopique des colonies après une coloration de gram a montré que toutes les souches sont des grams positifs dont la forme : coccobacilles, des Cocci et des bacilles (**Figure 10**).



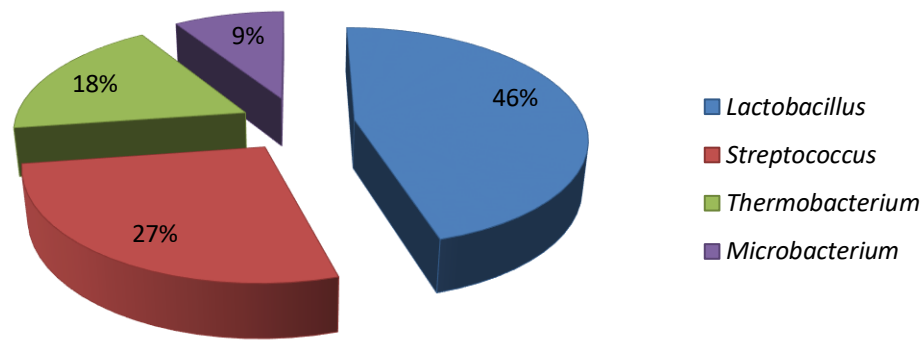
**Figure 10** : Photographies optiques (x100) de l'aspect cellulaire de deux isolats des bactéries lactiques après coloration de Gram.

Sur la base de quelques critères spécifiques du groupe des bactéries lactiques, à savoir la forme cellulaire (coccobacilles, bacilles ou Cocci), le test catalase et le type fermentaire (homo ou hétéro-fermentaire) ; 11 isolats qui ont subi aux tests précédents et qui ont été présumés appartenir aux genres suivants selon (**Holzappel et al., 2001**).

**Tableau 05** : Résultats des tests d'identification des lactobacilles.

N° PV	Catalase	Test d'homo/ hétéro fermentaire	La forme cellulaire	Genre
PV <sub>1</sub> -BL <sub>1</sub>	-	Homofermentaire strict	Coccobacille	<i>Lactobacillus</i>
PV <sub>2</sub> -BL <sub>2</sub>	-	Homofermentaire strict	Coccobacille	<i>Lactobacillus</i>
PV <sub>3</sub> -BL <sub>3</sub>	+	Homofermentaire strict	Bacille	<i>Microbacterium</i>
PV <sub>4</sub> -BL <sub>4</sub>	-	Homofermentaire strict	Coque	<i>Streptococcus</i>
PV <sub>5</sub> -BL <sub>5</sub>	-	Homofermentaire strict	Bacille	<i>Thermobacterium</i>
PV <sub>6</sub> -BL <sub>6</sub>	-	Homofermentaire strict	Bacille	<i>Thermobacterium</i>
PV <sub>7</sub> -BL <sub>7</sub>	-	Homofermentaire strict	Coque	<i>Streptococcus</i>
PV <sub>8</sub> -BL <sub>8</sub>	-	Homofermentaire strict	Coccobacille	<i>Lactobacillus</i>
PV <sub>9</sub> -BL <sub>9</sub>	-	Hétéro-fermentaire strict	Coccobacille	<i>Lactobacillus</i>
PV <sub>10</sub> -BL <sub>10</sub>	-	Homofermentaire strict	Coque	<i>Streptococcus</i>
PV <sub>10</sub> -BL <sub>11</sub>	-	Homofermentaire strict	Coccobacille	<i>Lactobacillus</i>

## Résultats et discussion



**Figure 11** : Graphe représentant le pourcentage des isolats lactiques sur MRS solide.

Nous constatons dans les 10 prélèvements une prédominance du genre *Lactobacillus* (46%) (Figure 11) qui caractérise la FV normale (bacilles de Doderlein) et qui joue un rôle protecteur contre les agressions microbiennes, par différents mécanismes tels que la production d'acide organique, la production d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et autres substances antimicrobiennes « des bactériocines ».

La flore de Doderlein est composée de lactobacilles, qui fermentent le glycogène ou le glucose présent dans l'épithélium vaginal par activation des œstrogènes en acides organiques dont majoritairement de l'acide lactique pour maintenir un pH vaginal voisin de 4 défavorables aux autres microorganismes pathogènes.

D'autres études montrées que chez une femme saine, d'âges moyens (post-pubertaires et pré-ménopausée), non enceinte et non menstruée, la flore vaginale est dominée par des lactobacilles de différentes espèces, les espèces reconnues comme dominant la FV étaient : *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. leichmanii*, *L. delbrueckii* et *L. salivarius* (Lepargneur et Rousseau, 2002).

### 4.1.2. Identification des entérobactéries

Les résultats d'identification biochimique par le système API 20E (Tableau 06) montrent que l'espèce *E. coli* représenté dans 66,66% des entérobactéries isolés, et 33,34% sont des *Citrobacter*.

Les *Citrobacters* sont réparti comme suit :

- Le genre *Citrobacter koseri/ amalonaticus* dans 16.66%.
- Le genre *Citrobacter freundii* dans 16.66%.

## Résultats et discussion

**Tableau 06 :** Caractères biochimiques d'identification des Entérobactéries (Api 20E).

N° de PV	ONP	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Souches identifier
PV <sub>1</sub> -En <sub>1</sub>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>E. coli</i> 1
PV <sub>3</sub> -En <sub>2</sub>	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Citrobacter Koseri / amalonaticus</i>
PV <sub>4</sub> -En <sub>3</sub>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>E. coli</i> 1
PV <sub>6</sub> -En <sub>4</sub>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>E. coli</i> 1
PV <sub>7</sub> -En <sub>5</sub>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>E. coli</i> 1
PV <sub>9</sub> -En <sub>6</sub>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>



**Figure 12 :** Identification biochimique par la Galerie API 20E.

Parmi les bactéries à Gram négatif nous avons noté la prédominance des entérobactéries représentant **60%** des isolats, *E. coli* est l'espèce le plus fréquemment isolé par des taux de **40%**.

Il apparaît que le pourcentage d'*E. coli* trouvée dans notre étude est supérieur à celles rapportés par d'autres travaux comme : **28,5%** pour (Adane *et al.*, 2017), **3,95%** pour (Elmoghazli, 2018).

Une étude réalisée en Uganda par (Tumuhamyé *et al.*, 2020) a objectivé des résultats proches de ceux de notre étude, où *E. coli* était isolée dans **34,5%** des cas.

### 4.1.3. Identification des Staphylocoques

Les résultats des tests biochimique et physiologique (Tableau 07) qui sont la catalase, la coagulase sur 13 prélèvements vaginales ensemencée sur milieu Chapman, dont 03 prélèvements non déterminé montrent que **100%** sont des **Staphylocoques**.

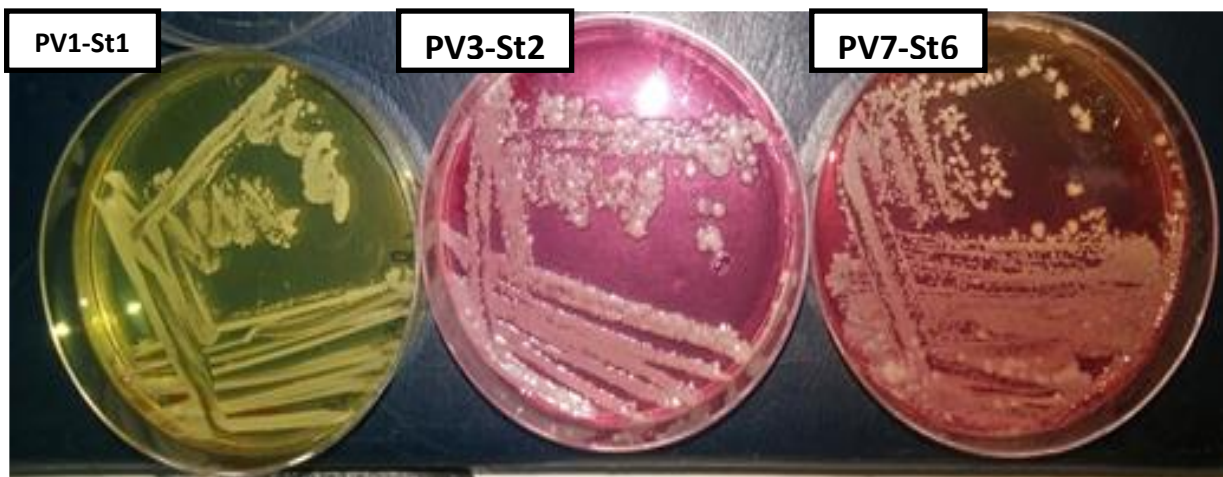
## Résultats et discussion

**Tableau 07** : Identification des souches isolées à partir de milieux Chapman.

N° de PV	Catalase	Coagulase	Mannitol	Souche identifier
PV <sub>1</sub> -St <sub>1</sub>	+	-	+	<i>Staphylococcus spp</i>
PV <sub>3</sub> -St <sub>2</sub>	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
PV <sub>4</sub> -St <sub>3</sub>	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
PV <sub>5</sub> -St <sub>4</sub>	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
PV <sub>6</sub> -St <sub>5</sub>	+	+	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
PV <sub>7</sub> -St <sub>6</sub>	+	-	+	<i>Staphylococcus spp</i>
PV <sub>8</sub> -St <sub>7</sub>	+	-	+	<i>Staphylococcus spp</i>
PV <sub>10</sub> -St <sub>8</sub>	+	+	-	<i>Staphylococcus spp</i>
PV <sub>11</sub>	ND	ND	+	ND
PV <sub>12</sub>	ND	ND	+	ND
PV <sub>13</sub>	ND	ND	-	ND

L'examen biochimique des souches isolée sur milieux Chapman (**Tableau 08**) montre que **50%** sont des *Staphylococcus aureus* et **50%** sont des *Staphylococcus spp*.

Par ailleurs une autre étude de (**Abdelaziz et al., 2014**) en Soudan montre que **6.9%** sont des *Staphylococcus aureus*.



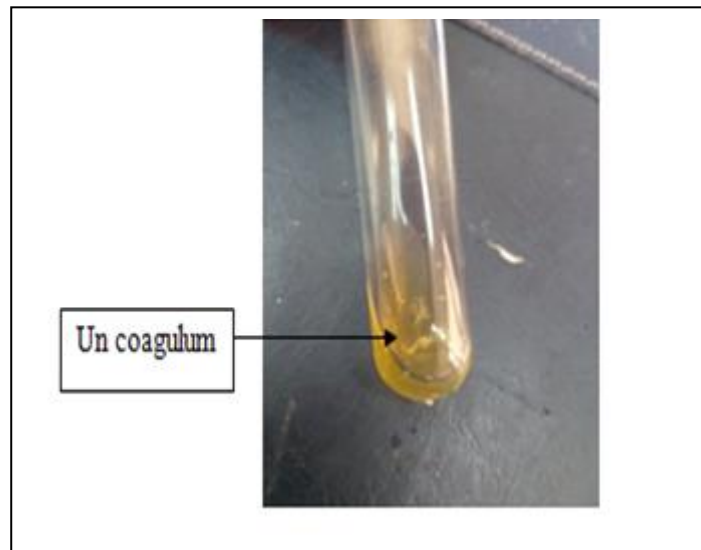
**Figure 13** : Aspect macroscopique de mannitol (+ et -) sur milieu Chapman.



## Résultats et discussion



**Figure 14 :** Résultat d'un catalase positive.



**Figure 15 :** Résultat d'un coagulase positive.

### 4.1.4. Identification des *Pseudomonas*

Après l'isolement des prélèvements sur milieu cétrimide (**Tableau 03**), les résultats montrent une absence de *Pseudomonas aeruginosa* et **30%** sont des *Pseudomonas spp.*

### 4.1.5. Identification des *Gardnerella vaginalis*

Les résultats de l'aspect microscopique (étas frais) montrent la présence de *clue cells* dans les prélèvements (**08** et **11**), ce qui signifie la présence de *Gardnerella vaginalis*, mais la mise en culture est non déterminée.

## Résultats et discussion

### 4.1.6. Identification des *Neisseria gonorrhoeae*

Les résultats de l'aspect macroscopique et microscopique des prélèvements vaginaux (Tableau 03) montrent l'absence des *Neisseria gonorrhoeae*.

### 4.1.7. Identification des levures

La mise en culture sur chroma-agar Candida a permis d'identifier 5 isolats (Tableau 08) qui répartissent entre 60% *C. albicans* et 40% *C. glabrata*, dans autre étude de (Odysseas et al., 2006) a trouvé des isolats comprenaient 80,2% *C. albicans* et 19,8% espèces non *albicans* représentées par : 7,3% *C. glabrata*, 2,6% *Zygosaccharomyces spp*, 2,1% *C. parapsilosis*, 1,6% *C. tropicalis*, 1% *C. guilliermondii*, 1% *C. kefir*, 1% *C. krusei*, 0,9% *C. ciferii*, 0,9% *C. famata*, 0,9% *C. lusitaniae* et 0,5% *C. dubliniensis*. Cette différence peut être expliquée par le nombre limité des prélèvements réalisé dans notre étude.

Tableau 08 : Résultats d'isolement sur chroma-agar Candida.

N° PV	La couleur de colonie	Espèce
PV <sub>1</sub> -LV <sub>1</sub>	Bleu vert	<i>Candida albicans</i>
PV <sub>2</sub> -LV <sub>2</sub>	Bleu vert	<i>Candida albicans</i>
PV <sub>6</sub> -LV <sub>3</sub>	Bleu vert	<i>Candida albicans</i>
PV <sub>8</sub> -LV <sub>4</sub>	Mauve	<i>Candida glabrata</i>
PV <sub>9</sub> -LV <sub>5</sub>	Mauve	<i>Candida glabrata</i>

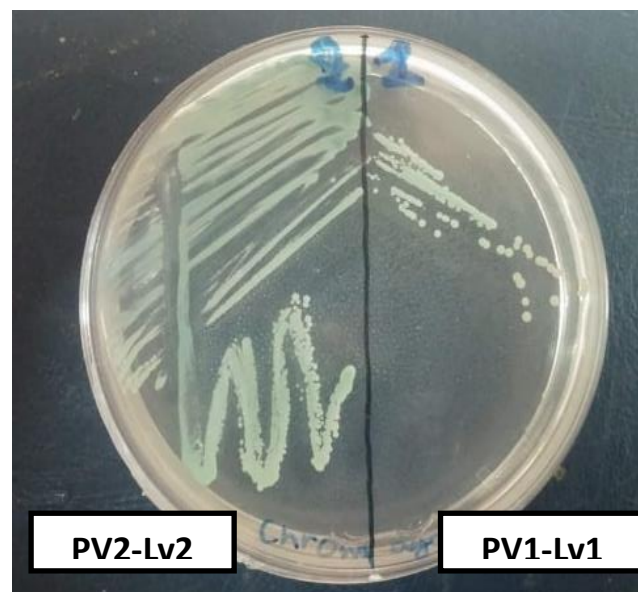


Figure 16 : Aspect macroscopique de *Candida albicans* sur chroma-agar candida.

## ***Résultats et discussion***

La mycose vaginale représente l'infection vaginale la plus rencontrée chez les femmes (75%) on appelle aussi candidose car 80 à 90% des cas causée par *C. albicans* (**Vanessa, 2001**), qui existe à l'état saprophyte dans la muqueuse vaginal et peut passer à l'état pathogène sous l'influence de divers facteur favorisants (**anonyme, 2003**).

Parmi les autres espèces, le *C. glabrata* affecte de 10 à 20 % des femmes, *C. krusei*, *C. tropicalis* et *C. parapsilopsis* sont plus rarement en cause. Mais le *C. glabrata* est plus résistant et souvent à l'origine de formes de blastoconidies à la fois comme commensal et comme pathogène (**Belaisch, 2013**).

## Conclusion générale et perspective

L'appareil génital féminin constitue un tractus ouvert de contamination par divers pathogènes qui pouvant causer une vaginose, mycose ou vaginite et souvent sont associées à un déséquilibre de la flore normale, en particulier l'élimination ou la réduction de la flore de Doderlein « Lactobacilles ».

Notre étude a mis en évidence la diversité étiologique de la flore vaginale des femmes en activité sexuel et menstruées ainsi qu'étudier les caractéristiques phénotypiques et biochimiques de microorganismes en particulier les lactobacilles qui sont prédominant dans une microflore saine.

On a réalisé ce travail qui a été basé sur une étude microbiologique par des examens directe et des colorations simple ainsi que des tests spécifiques visé a identifié les espèces, nos résultats montrent une diversité des microorganismes plus au moins fréquentes sont ; des lactobacilles, des entérobactéries, des staphylocoques et un pourcentage faible de streptocoques, des levures (*Candida albicans* et *Candida glabrata*) et des *Pseudomonas*.

Nous pouvons conclure une prédominance du genre *Lactobacillus* par rapport aux autres genres des bactéries lactique et une biodiversité des autres germes qui peuvent être des microorganismes commensaux ou bien mené à des infections vaginales grave.

Par manque du temps et par suite de confinement, les résultats obtenus au cours de cette étude restent préliminaires et incomplets et des études plus poussées sont nécessaires pour tirer des conclusions définitives. Cependant, ils sont très prometteurs et ouvrent de nombreuses perspectives :

- Tester l'activité antibiotique de différentes souches isolées (Antibiogramme).
- L'identification des bactéries lactique par les tests complémentaires (test de l'attaque des sucres, test de la croissance à différents températures).
- Identification des mécanismes d'antagonisme mis en œuvre par les souches de lactobacilles (compétition, synthèse de substances antimicrobiennes).
- Elargir l'étude à d'autres prélèvements hospitaliers dans la wilaya.

## Références bibliographiques

- **Abdelaziz, Z.A., Mutasim, I.E., Naser, B., et el Hamid, M.** (2014). Vaginal infections among pregnant women at Omdurman Maternity Hospital in Khartoum, Sudan. *The Journal of Infection in Developing Countries* [en ligne], 8(04), 490-497 (consultée le 26/05/2020). Disponible sur : [https://www.researchgate.net/publication/261608838\\_Vaginal\\_infections\\_among\\_pregnant\\_women\\_at\\_Omdurman\\_Maternity\\_Hospital\\_in\\_Khartoum\\_Sudan](https://www.researchgate.net/publication/261608838_Vaginal_infections_among_pregnant_women_at_Omdurman_Maternity_Hospital_in_Khartoum_Sudan)
- **Adane, B., Yeshiwork, A., Delayehu, B et Amete, M.** (2017). Prevalence of Bacterial Vaginosis and Associated Risk Factors among Women Complaining of Genital Tract Infection. *Hindawi-International Journal of Microbiology* [en ligne], 2017, 1-8p. (consultée le 25/05/2020) Disponible sur : [https://www.researchgate.net/publication/318858879\\_Prevalence\\_of\\_Bacterial\\_Vaginosis\\_and\\_Associated\\_Risk\\_Factors\\_among\\_Women\\_Complaining\\_of\\_Genital\\_Tract\\_Infection](https://www.researchgate.net/publication/318858879_Prevalence_of_Bacterial_Vaginosis_and_Associated_Risk_Factors_among_Women_Complaining_of_Genital_Tract_Infection)
- **Amélie, Ch., Xavier, F.** (2019). Diagnostic d'une infection génitale haute : critères cliniques, paracliniques, imagerie, et coéloscopie. *Recommandations pour la pratique clinique Infections Génitales Hautes, CNGOF-SPILF. Gynécologie Obstétrique Fertilité et Sénologie* [en ligne]. Elsevier, Epub ahead of print, 10, 1016, 13p. (consultée le 09/04/2020) Disponible sur : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02127841/document>
- **Amouri, I., Abbes, S., Sellami, H., Makni, F., Sellami, A et Ayadi, A.** (2010). La candidose vulvovaginale : revue. *Journal de Mycologie Médicale*, 20, 108-115p (consultée le 10/02/2020) Disponible sur : [https://www.academia.edu/17301226/La\\_candidose\\_vulvovaginale\\_revue](https://www.academia.edu/17301226/La_candidose_vulvovaginale_revue)
- **Aractingi, S., Aubin, F., Avril, M.F. et al.** (2008). Item 87-infection cutanéomuqueuse bactérienne et mycosique : *Candida albicans*. *Annales de dermatologie et de vénéréologie* [en ligne], 1355, 42-48p (consultée le 23/01/2020) Disponible sur : <https://confkhalifa.com/trainingkhalifa/wp-content/uploads/2014/2015/08/candida-cours.pdf>
- **Barbès, C., Boris, S.** (1999). Potential Role of Lactobacilli as Prophylactic Agents Against Genital Pathogens. *AIDS Patient Care and STDs* [en ligne], 13(12), 747-751p. (consultée le 04/02/2020) Disponible sur :

<https://sci-hub.tw/10.1089/apc.1999.13.747>

- **Barillier, H.** (2007). La stérilité féminine Prise en charge actuelle en France. Thèse de docteur en pharmacie : Sciences pharmaceutiques. Université de Caen, 213p. (consultée le 10/04/2020). Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00658638/document>
- **Becton, D.** (2014). BBL™ CHROMagar™ Candida Medium [en ligne]. Allemagne, 1-4p. (consultée le 02/05/2020). Disponible sur : <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9019>
- **Bekheira, H.** (2018). Effet antimicrobien des extraits de Mentha x piperita chez Candida albicans responsable des les infections urogénitales chez les femmes [en ligne]. Mémoire de master : biotechnologie et valorisation des plantes. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 65p. (consultée le 23/01/2020). Disponible sur : [https://pdfs.semanticscholar.org/1d7c/ef7ee884825ebb16e82936f13c0697054076.pdf?fbclid=IwAR2phVb53Di2xvybHiBqA6XYu4JvC7W5pEiDhCNeMQ2x1SyCZ\\_2pFtwQG7s](https://pdfs.semanticscholar.org/1d7c/ef7ee884825ebb16e82936f13c0697054076.pdf?fbclid=IwAR2phVb53Di2xvybHiBqA6XYu4JvC7W5pEiDhCNeMQ2x1SyCZ_2pFtwQG7s)
- **Belaisch, J.** (2013). Les candidoses vaginales. Gynécologie [en ligne], (consultée le 06/06/2020). Disponible sur : [https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2013/08/12/les-candidoses-vaginales\\_224541](https://www.legeneraliste.fr/actualites/article/2013/08/12/les-candidoses-vaginales_224541)
- **Blandine, C., Xavier, C.** (2017). Infection génitale : Gynécologie obstétrique. Édition 2017. Paris.
- **Bohbot, J.M., Lepargneur, J.P.** (2012). La vaginose en 2011 : encore beaucoup d'interrogations. Gynécologie obstétrique & Fertilité [en ligne], 40(1), 31-36p (consultée le 23/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1016/j.gyobfe.2011.10.013>
- **Boskey, E., Cone, R., Whaley, K et Moench, T.** (2001). Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. Human Reproduction [en ligne], 16(9), 1809-1813p (consultée le 03/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1093/humrep/16.9.1809>
- **Delalande, A.** (2017). La vaginose bactérienne. Facteurs de risques endogènes/exogènes et infection au papilloma virus associé [en ligne]. Thèse de

doctorat : Pharmacie. Lille : Université de Lille 2, 172p. (Consultée le 01/02/2020).  
Disponible sur : <http://pepite.univ-lille2.fr/notice/view/UDSL2-workflow-7997>

- **Diop, B., Konaté, I., PA Ba Dieng, M., Wane, Y et Sarré, S.M.** (2017). Prise en Charge de la Pelvipéritonite en Milieu Chirurgical à Dakar : À Propos de 62 Observations [en ligne], 18(1). (Consultée le 09/04/2020) Disponible sur : <https://www.hsd-fmsb.org/index.php/hsd/article/view/760>
- **Djelouat, S.** (1990). Le diagnostic biochimique bactérienne. Constantine.
- **Echakour, B.** (2018). Vaginose bactérienne : Facteurs de risque et prise en charge [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université de Mohammed V, 105p (consultée le 20/12/2019). Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/16209/P%20%20%20%2014%20%20%20%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- **Elaine, N., Marieb.** (2005). Anatomie et Physiologie humaine. Pearson education.
- **Elmoghazli, R.** (2018). Profil microbiologique des infections vaginales [en ligne]. Thèse de doctorat : médecine. Faculté de médecine et de pharmacie : Marrakech, 75p. (consultée le 25/05/2020) Disponible sur : <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2018/these148-18.pdf>
- **Faller, A., Sprumont, P et Schünke, M.** (2006). La corp humaine. 5 -ème édition. Bruxelles. 375-380p. ISBN 978-2-8041-5037-2.
- **Figarella. J., Leyral. G et Terret. M.** (2004). Microbiologie générale et appliquée. Ed. J. Lanore.
- **Gernigon, T.** (2003). Embryologie general humaines. Alger, 39p. ISBN 9961-0-0276-8.
- **Graesslimn, O., Verdon, R., Raimond, E., Koskas, M., et Garbin, O.** (2019). Prise en charge des abcès tubo-ovariens (ATO) et des formes compliquées d'infections génitales hautes. RPC Infections génitales hautes CNGOF et SPILF. Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie [en ligne], 47(2019), 431-441p. (consultée le 08 /04/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/j.gofs.2019.03.011>
- **Güzel, A.B., Küçükgöz-Güleç, Ü., Aydın, M., Gümral, R., Kalkanci, A et Ilkit, M.** (2013). Candida vaginitis during contraceptive use: the influence of methods, antifungal susceptibility and virulence patterns. Journal of Obstetrics & Gynecology [en ligne], 33(8), 850-856p. (consultée le 22/12/2019) Disponible sur :

[https://www.researchgate.net/publication/258500903\\_Candida\\_vaginitis\\_during\\_contraceptive\\_use](https://www.researchgate.net/publication/258500903_Candida_vaginitis_during_contraceptive_use) The influence of methods antifungal susceptibility and virulence patterns

- **Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., Schillinger, U.** (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 365-373p.
- Infections cutanéomuqueuses à *Candida albicans*. (2003). *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* [en ligne], 130(SUP 10), 53-58p (consultée le 05/06/2020). Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/en/article/154397>
- **Judlin, P., Muhlstein, J et Koebelé, A.** (2012). Cervicités. EMC – Gynécologie [en ligne], 7(2), 1-6p. (consultée le 07/04/2020). Disponible sur : [https://sci-hub.tw/10.1016/S0246-1064\(12\)46568-9](https://sci-hub.tw/10.1016/S0246-1064(12)46568-9)
- **Kerangal.** (1999). Les prélèvements biologiques (sang, urines, sécrétion liquide, d'épanchement biopsiques. Masson, 51p.
- **Laîné, S.** (2017). La flore vaginale : un équilibre fragile [en ligne]. (Consultée le 18/02/2020) Disponible sur : <https://www.doctissimo.fr/html/sexualite/hygiene-feminine/articles/11788-flore-vaginale.htm>
- **Laurie, G.** (2017). Les recommandations du CNGOF sur la prise en charge diagnostique et thérapeutique des Infections Génitales Hautes de la femme sont-elles appliquées aux urgences gynécologiques du CHU de Tours ? [En ligne]. Thèse de doctorat : médecine. Université de François Rabelais, 93p. (consultée le 18/04/2020). Disponible sur : [http://memoires.scd.univ-tours.fr/Medecine/Theses/2017\\_Medecine\\_GagneuxLaurie.pdf?fbclid=IwAR0UaKpCIavSXkqp-nAJ2KkB0syxycXcmXWdnq74T3UDRYDNXiy7QVP6Xvk](http://memoires.scd.univ-tours.fr/Medecine/Theses/2017_Medecine_GagneuxLaurie.pdf?fbclid=IwAR0UaKpCIavSXkqp-nAJ2KkB0syxycXcmXWdnq74T3UDRYDNXiy7QVP6Xvk)
- **Le Blanc, R.M.** (2009). Détecter des infections génitales basses chez la femme. *Option Biologie* [en ligne], (424), 19-20p (consultée le 29/01/2020). Disponible sur : [https://sci-hub.tw/10.1016/s0992-5945\(09\)70232-6](https://sci-hub.tw/10.1016/s0992-5945(09)70232-6)
- **Lefras, L., Labdi, A.** (2018). Etude de la prévalence et de l'antibiorésistance des principales bactéries isolées des prélèvements des pertes vaginales (wilaya Ain Defla) [en ligne]. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Ain Defla : El Djilali Bou Naama, 99p. (consultée le 02/06/2020). Disponible sur :



<http://193.194.80.11/xmlui/bitstream/handle/123456789/2407/M%C3%A9moire%20finale%20complet.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- **Lepargneur, J.P.** (2016). Lactobacillus crispatus, biomarqueur de l'écosystème vaginal sain. Ann Biol Clin [en ligne], 74(4), 421-425p (consultée le 20/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1684/abc.2016.1169>
- **Lepargneur, J.P., Rousseau, V.** (2002). Rôle protecteur de la flore de Doderlein. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction [en ligne], 31(5), 485-494p (consultée le 25/01/2020). Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/en/article/114512>
- **Loizeau, C.** (2012). Intérêt des probiotique dans la prise en charge des infections vaginales récidivantes [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université de Nantes, 106p (consultée le 19/12/2019).
- **Malecha, A., Rubeena, H., Sadia, I et Tahir, M.** (2008). Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. Biomedica [en ligne], 24(Jan), 54-56p. (consultée le 20/12/2019) Disponible sur : <http://www.thebiomedicapk.com/articles/255.pdf>
- **Marieb, E.N.** (2005). Anatomie et physiologie humaines. 6 ème édition. France, 1114-1118p. ISBN 2-7446-7118-8
- **Marion, M.** (2018). Intérêt des probiotiques dans la prise en charge des infections vaginales à l'officine [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie, 109p. (consultée le 29/01/2020) Disponible sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01962203/document>
- **Mark, H., Deborah, M.** (2008). Dépistage et prise en charge de la vaginose bactérienne pendant la grossesse. Directive clinique de la SOGC [en ligne], (211), 709-716p (consultée le 28/01/2020). Disponible sur : [https://www.jogc.com/article/S1701-2163\(16\)32920-6/pdf](https://www.jogc.com/article/S1701-2163(16)32920-6/pdf)
- **Martin, R., Suárez, J.E.** (2010). Biosynthesis and degradation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by vaginal lactobacilli. Applied and environmental Microbiology [en ligne], 76(2), 400-405p (consultée le 20/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1128/aem.01631-09>
- **Menard, J.P., Bretelle, F.** (2008). Déséquilibre microbiologique de la flore vaginale chez la femme enceinte. Controverse sur le dépistage de la vaginose bactérienne asymptomatique. La lettre du Gynécologue [en ligne], (334), 17-20 (consultée le 29/01/2020). Disponible sur : <https://www.edimark.fr/front/frontpost/getfiles/14504.pdf>

- **Menche, N.** (2014). *Biologie Anatomie Physiologie. Organes géniaux*. 5<sup>-ème</sup> édition. 347-351p. ISBN 978-2-224-03342-2
- **Nasioudis, D., Linhares, I.M., Ledger, W.J et Witkin, S.S.** (2016). Bacterial vaginosis: a critical analysis of current knowledge. *BJOG* [en ligne], 124(1), 61-69p (consultée le 25/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1111/1471-0528.14209>
- **Nathalie, F.** (2007). *Cours de biologie humaine*. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : France Quercy, 189-190p. ISBN 978-2-717-1572-5
- **Ocana, V., Nader-Macias, M.** (2002). Vaginal lactobacilli: self- and co-aggregating ability. *British Journal of Biomedical Science* [en ligne], 59(4), 183-190p (consultée le 25/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1080/09674845.2002.11783657>
- **Odyseas, G., Stavroula, B., Evangelos, M., Dimitrios, H., George, K et Evangelia, K.** (2006). Prevalence of clinical vaginal candidiasis in a university hospital and possible risk factors. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* [en ligne], 126(2006), 121-125p. (Consultée le 27/05/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301211505005129>
- **Pastaud, C.** (2013), Intérêt des probiotiques dans le traitement de la vaginose bactérienne [en ligne]. Thèse de doctorat : pharmacie. Université de LIMOGES, 72p. Disponible sur : <http://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-42443?lightbox=true>
- **Paul, K., Boutain, D., Manhart, L et Hitti, J.** (2008). Racial disparity in bacterial vaginosis: the role of socioeconomic status, psychosocial stress, and neighborhood characteristics, and possible implications for preterm birth. *Social Science & Medicine* [en ligne], 67(5), 824-833p. (consultée le 18/04/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.1016/j.socscimed.2008.05.017>
- **Prescott., Harley., Klein., Willey., Sherwood et Woolverton.** (2010). *Microbiologie : les protéobactéries*. 3<sup>-ème</sup> Édition. Bruxelles, 578-582p. ISBN 978-2-8041-6012-8
- **Quentin, R., Lanotte, P et Mereghetti, L.** (2007). Prélèvements génitaux chez la femme. In : Denis F., Poly M.C., Martin Ch., Bingen E et Quentin R. *Bactériologie*

médicale Technique usuelles [en ligne]. 2 ème édition. Paris, 237-253p. (consultée le 29/12/219) Disponible sur :

<http://fsnv.univ-bba.dz/wp-content/uploads/2018/11/Fran%C3%A7ois-Denis-Bact%C3%A9riologie-M%C3%A9dicale.pdf>

- **Rousseau, V.** (2004). Évaluation d'oligosaccharides à effet prébiotique vis-à-vis de la microflore vaginale [en ligne]. Thèse de doctorat : Microbiologie et Biocatalyse Industrielle. Toulouse : l'institut national des sciences appliquées de Toulouse, 186p (consultée le 25/12/2019). Disponible sur : <https://core.ac.uk/download/pdf/35285128.pdf>
- **Sebtani, L.** (2008). Vaginose bactérienne [en ligne]. Thèse de doctorat : pharmacie. Rabat : Université Mohammed V ,117p (consultée le :25/12/2019). Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/14567/P0512008.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- **Superbeck, R.R., Arvidson, C.G.** (2011). Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. Future Microbiology [en ligne], 6(5), 567-582p. (consultée le 23/01/2020). Disponible sur : <https://sci-hub.tw/10.2217/fmb.11.36>
- **Tailliez, P.** (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. Actualités microbiologiques [en ligne], 6, 35-41p (consultée le 12/12/2019). Disponible sur : [https://sci-hub.tw/10.1016/s1294-5501\(04\)94231-8](https://sci-hub.tw/10.1016/s1294-5501(04)94231-8)
- **Terese, W.** (2009). [En ligne]. (Consultée le 12/05/2020) disponible sur : <https://www.liberaldictionary.com/papanicolaou-test/>
- **Tamboura, D.J.** (2004). Aspects épidémiologiques, cliniques et bactériologiques de la vaginose bactérienne chez la femme en période d'activité génitale au chu-yo de Ouagadougou (BURKINA FASO) [en ligne]. Thèse de doctorat : Pharmacie. Burkina Faso : université de Ouagadougou, 95p (consultée le 15/12/2020) Disponible sur : <http://www.beep.ird.fr/collect/uouaga/index/assoc/M09638.dir/M09638.pdf>
- **Tumuhamyé, J., Steinsland, H., Tumwine, J.K. et al.** (2020). Vaginal colonization of women in labour with potentially pathogenic bacteria: a cross sectional study at three primary health care facilities in Central Uganda. BMC Infection Diseases [en ligne], 20, 98. (consultée le 27/05/2020) Disponible sur : <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-020-4821-6>

- **Turovskiy, Y., Noll, K.S. et Chikindas, M.L.** (2011). The etiology of bacterial vaginosis. *Journal of applied microbiology* [en ligne], 110(5), 1105-1128p. (consultée le 19/12/2019). Disponible sur :  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3072448/>
- **Vanessa, C.** (2001). Les candidoses vaginales recidivantes à *Candida Albicans* [en ligne], Thèse de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincare-Nancy 1, 131p. (consultée le 05/06/2020). Disponible sur :  
<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732305/document>

## Annexes

### Annexe I : Composition des milieux (en g/l d'eau distillée)

- **Chapman**

Peptone 10g

Extrait de viande de bœuf 1g

Chlorure de sodium 75g

Mannitol 10g

Rouge de phénol 0,025g

Agar-Agar 15g

Eau distillée qsp 1L

PH = 7,4

- **Mac Conkey**

Peptones bactériologiques 20g

Sels biliaires 1,5g

Chlorure de sodium 5g

Lactose 10g

Rouge neutre 0,03g

Cristal violet 0,001g

Agar 13,5g

PH final = 7,1 ± 0,2

- **MRS**

Peptone 10g

Acétate de sodium 5g

Extrait de viande 10g

Sulfate de magnésium 0,10g

Extrait de levure 5g

Sulfate de manganèse 0,05g

Glucose 20g

Phosphate disodique 2g

Polysorbate 80 1g

Agar 15g

Citrate d'ammonium 2g

PH final à 25°C :  $6.5 \pm 0,2$

- **Cétrimide**

Peptone 20g

Chlorure de magnésium 1,40g

Sulfate dipotassique 10g

Cétrimide 0,30g

Glycérol 10ml

Agar 13,60g

PH final à 25°C:  $7,2 \pm 0,2$

- **Sabouraud**

Peptone de caséine 5g

Peptone de viande 5g

Glucose monohydraté 40g

Agar 15g

PH final à 25°C :  $5,6 \pm 0,2$

## **Annexe II : Préparation des milieux**

### ➤ **Gélose au sang cuit**

- Liquéfier la gélose Columbia (180 ml) et atteindre son refroidissement à 45 °C ;
- Ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette pasteur (9ml) de sang de cheval pour obtenir une concentration finale ;
- Homogénéiser en faisant rouler le flacon en évitant la formation de bulles
- Maitre la gélose dans le bain marie à 75 °C ;
- Couler en boites de Pétri en évitant la formation de bulles d'air.

### ➤ **MRS**

- Mettre 15.5g dans 250ml d'eau distillé ;
- Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène ;
- Ajouter 12.5 mg de vert de bromocrésole ;
- Ajuster le ph par l'addition de Na OH et HCl jusqu'à l'obtention de  $\text{pH} = 6,2 \pm 0.2$  ;
- Répartir dans les flacons ;
- Stérilisation à l'autoclave pendant 30 min.