الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun - Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Infectiologie

Présenté et soutenu publiquement par

- HADJ ARAB Kenza
- HAMANI Amina
- MEKID Fatima Zohra

Thème

Les infections vaginales chez les femmes enceintes dans la maternité « Aourai Zohra» -Tiaret

Jury

Président : Dr. DOUKANI Koula MCA
 Promoteur : Dr. TABAK Souhila MCA
 Examinateur : Dr. MELIANI Samia MCA

Année universitaire: 2017-2018

Remerciements

Après avoir rendu grace à Allah le tout puissant et le misécordieux nous tenons à remercier vivement tous ceux qui de prés ou de loin ont participé à la rédaction de ce mémoire.

Nous sincéres remerciement, plus particuliérement:

A notre Enseignante et encadreur Dr « TABAK Souhila » on a tout l'honneur et le plaisir de travailler avec vous.

Merci madame pour votre aide votre disponibilité, votre patience, et tous vos précieux conseils.

Au membres de jury: Dr. DOUKANI Koula et Dr. MELIANI Samia

Nous vous remercions d'avoir accepter de juger notre mémoire.

AMr «TOUAIBIAMenouar» inspecteur pédagogique de l'institut de paramédical.

Merci monsieur pour votre aide, vos informations et vos explications.

A Mme« BENAISSA Widad » secrétaire de la bibliothéque de paramédical .

Merci pour votre confiance, gentillesse et orientations.

A toute l'équipe de la maternité « AOUARAI Zohra »

Merci pour votre accueil chaleureux.

Au personnel de la maternité surtout Mme« JAOUADI Saadia » et

Mme« SAHRAOUI Fatima Zohra »

Merci mesdammes pour vos aides présences.

A monsieur « BENCHAIIB Khaled »biologiste au laboratoire de Maachi Merci pour votre aide et explications.

Et enfin nous tenons à remercier tout le staff de notre faculté des Sciences de la Nature et de la

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance.

Aussi, c'est tout simplement que Je dédié ce Mémoire

A mon Dieu le tout puissant. C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, à lui soit la gloire.

A mes très chers parents Salem HADJ ARAB et Hamama BEN AMER BELKACEM
Ce modeste travail parait bien dérisoire pour traduire une reconnaissance infinie envers
des parents aussi merveilleux. Puisse ce jour être la récompense de tous vos efforts et
prières.

Je vous aime beaucoup.

A mon très cher frère Ghani «Ce que tu as beaucoup peuvent l'avoir mais ce que tu es pour moi personne ne peut l'être».

A mes chers frères: Tayeb, Azzedine, Mourad, Abdou et chères sœurs Nadia, Dalila, Vanina.

Je vous dédie ce modeste travail en témoignage de mon profond amour et mon indéfectible attachement

A mes chères belles sœurs: Lila, Linda, Dihia, Wahida, Dounia Merci pour votre amitié, soutien, conseils, gentillesse. Vous êtes les merveilleuses belles sœurs que j'ai connues. Je vous aime très fort.

A mon chèr Djaffar SI SAID

Merci pour tes sacrifices, ton soutien, ta gentillesse sans égal et ton amour tu es mon cadeau de ciel.

A toute ma famille

L'affection et l'amour que je porte sont sans limites. Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et le respect que j'ai pour vous. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer tout le bonheur et la prospérité.

A toute mes amies: Khadidja, Rima, Soumia, Sara En souvenir d'agréables moments passés ensemble en témoignage de notre amitié.

A tous ceux qui me sont chers et dont je n'ai pas pu citer les noms qu'ils me pardonnent.

HADJ ARAB Kenza

= merci

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mon Dieu le tout puissant

Qui m'a toujours aidé et fortifié dans mon parcours scolaire. C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, Merci de me montrer le chemin.

A mes très chers parents

Merci pour l'éducation que vous avez nous donner et pour tous les efforts pour que nous voyons réussir. Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A mes grands parents.

A mes très chers frères

Abd elillah, Mohamed et Abd elkader

A mes très chères sœurs

Soumia, Zouzou et Marwa

A mon oncle Ahmed

Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A tous mes oncles et tantes

Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A tous mes cousins et cousines

A toutes mes amies: Cherifa, Yasmin et Khadîdja, Fatiha, Ahlem, Aida, Noura En souvenir de ces années que nous avons passées ensembles en faculté.

A tous ceux qui me sont chers. Et dont je n'ai pas pu citer les noms Qu'ils me pardonnent.

HAMANI Amina

Dédicace

Je dédie ce Mémoire

A mon Dieu le tout puissant

A mes très chers parents

A tous mes sœurs et Frères

Ainsi à toute la famille MEKID

A mon fiancé

Pour son encouragement et son soutien et sa présence

A Toutes mes amies

A tous ceux qui me sont chers. Et dont je n'ai pas pu citer les noms.

MEKID Fatima

Sommaire

Liste des Abréviations	i
Liste des Figures	.ii
Liste des Tableaux	iii
Liste des Annexes	.iv
Introduction	.01
Première partie: Partie Bibliographique	
Chapitre I: Les Infections vaginales chez les femmes enceintes	
I.1. Historique	.02
I.2. Définition	.03
I.3. Types d'infectionsvaginales plus fréquentes au cours de la grossesse	.03
I.3.2. Vaginose bactérienne	.04
I.3.3. Vulvovaginite à Trichomonas	05
I.4. Symptômes d'infections vaginales	.06
I.4.1.Symptômes de la vulvo-vaginite candidosique (infection à champignons)	.07
I.4.2. Symptômes de la vaginose bactérienne	.07
I.4.3. Symptômes de la vaginite à <i>Trichomonas</i>	07
I.5.Principales causes d'acquisition des infections vaginales en période dela grossesse	.08
I.6.Germes plus fréquents responsables des infections vaginales	.09
I.6.1. Composition de la flore commensale vaginale saine	.09
I.6.2.Germes impliqués dans les infections vaginales chez lesfemmes enceintes	.11
I.7. Diagnostic d'une infection vaginale	.12
I.7.1. Diagnostic de la vulvovaginite à Candida	13
I.7.2. Diagnostic de la vulvovaginite à Trichomonas	14
I.7.3. Diagnostic de la vaginose bactérienne	14
I.8. Traitement des infections vaginales pendant la grossesse	.15
I.8.1. Traitement de la vulvovaginite à Candida	16
I.8.2. Traitement de la vulvovaginte à Trichomonas	16
I.8.3. Traitement de la vaginose Bactérienne	.17
I.9.Moyen sdelutte contrelesin fections vaginales	.17

Deuxième partie: Partie expérimentale

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1. Objectif	19
II.2. Lieu et durée du travail	19
II.3. Matériel	19
II.3.1. Matériel Biologique	20
II.3.2. Matériel du laboratoire	20
II.3.3 Produits utilisés	21
II.4.Méthodes	21
II.4.1.Protocole expérimental	22
II.4.2.Prélèvements des pertes vaginale (PV)	23
II.4.3.Enrichissement desécouvillons des prélèvements dans des bouillons nutritifs.	23
II.4.4.Ensemencement surmilieux de culture	24
II.4.5.Examen cytologique	24
II.4.5.1. Observation macroscopique	24
II.4.5.2. Observation microscopique à l'état frais	24
II.4.5.3.Observation microscopique après coloration de Gram	25
II.4.6.Examen bactériologique	26
II.4.6.1.Identification Biochimique	26
II.4.6.2. Antibiogramme	30
II.4.6.3. Systèmes d'identification microbienne commerciale (La galerie Api 20E et	Api
20NE	32
Chapitre III: Résultats et discussion	
III.1.Résultats de l'étude macroscopique des souchesisolées	34
III.2.Résultats d'identification biologique des souchesisolées	36
III.3. Résultats de l'examen bactériologique	39
III.3.1.Résultats d'identification des tests biochimiques	41
III.3.2. Résultats de l'antibiogramme	43
III.3.3.Résultats d'API20E et API20NE	44
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Anneyes	55

Liste des abréviations

ADH: Arginine Dihydrolase **PCR**: Polymerase chaine reaction (réaction

en Chaîne par Polymérase, Amplification en chaine

API 20 E : Analytical Profile Index par polymérisation(ACP)).

À l'identification des entérobactéries **PV**: Pertes Vaginales

API 20 NE: Analytical Profile index S.aureus: Staphylococcus aureus

À l'identification des non entérobactéries Sp: Espèce

ASPC: Agence de la santé publique **Spp**: Sous espèces

Du Canada SS: Salmonella-Shigella

BN: Bouillon nutritif. **TDA**: Tryptophane Désaminase

C.albicans : Candida albicans TSI : Triple Sugar Iron

CHR: Centre Hospitalier Régional *T.vaginalis*: *Trichomonas vaginalis*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice **VIH :** Virus de l'immunodéficience humaine

E.coli: Escherichia coli

GN: Gélose Nutritive

G.vaginalis: Gardnerella vaginalis

HAS: La Haute Autorité de Santé

IND: Institution Notre-Dame

ITS: Infection Transmise sexuellement

LDC: Lysine Décarboxylase

MM: Mannitol Mobilité

ODC: Ornithine décarboxylase

Liste des figures

Figure N°01 : Schéma du protocole expérimental	22
Figure N°02: Découpage des écouvillons (manipulation)	23
Figure N°03: Enrichissement des prélèvements vaginales dans le BN	23
Figure N°04 : Dépôt des gouttes de la suspension bactérienne	24
Figure N°05 : Ensemencement des souches isolées.	24
Figure N°06 : Résultats d'enrichissement des échantillons 1, 2, 3, 4 et 5 dans le BN	35
Figure N°07 : Résultats d'enrichissement des échantillons 6, 7, 8, 9 et 10 dans le BN	35
Figure N°08: Résultats d'enrichissement des échantillons 11, 12, 13, 14 et 15 dans le BN	35
Figure N°09 : Résultats d'enrichissement des échantillons 16, 17, 18, 19 et 20 dans le BN	35
Figure N°10: Résultats d'ensemencements des échantillons : 6 et 9 dans les milieux de cultu	ıre après
incubation	38
Figure N°11 : Résultat positif de l'échantillon 14 sur le milieu GN	40
Figure N°12 : Résultats négatif de l'échantillon 18 sur le milieu Mac Conkey	40
Figure N°13 : Résultats des Tests biochimiques des échantillons.	42
Figure N°14: Résultats de l'antibiogramme des échantillons sensibles aux antibiotiques	43
Figure N°15 : Résultats d'API 20 E des échantillons : 17, 19 et 20	45
Figure N°16: Résultats d'API 20 NE d'échantillon 18	46
Figure N°17 : Anatomie d'appareil génital féminin	58
Figure N°18: Résultats d'ensemencement des échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12 et 13	68
Figure N°19: Résultats d'ensemencement des échantillons : 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20	69
Figure N°20 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 3, 4, 7 et 9	70
Figure N°21 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 12, 14, 17, 19 et20	71
Figure N°22 : Résultats des tests biochimiques des échantillons	72

Liste des tableaux

Tableau N°01: Symptômes des principales infections vaginales
Tableau N°02 : Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée
Tableau N°03 : Composition de la flore vaginale avant la puberté, pendant la grossesse et après la
ménopause11
Tableau N°04 : Diagnostic différentiel et fréquence des principales vaginites 12
Tableau N°05 : Traitement recommandé contre l'infection vaginale 15
Tableau N°06 : Déroulement des prélèvements des pertes vaginales 20
Tableau N°07 : Appareillages, verreries et autres 20
Tableau N°08 : Réactifs, Tests, Milieux de culture et Colorants 21
Tableau N°09 : Résultats d'enrichissement dans le bouillon nutritif
Tableau N°10 : Résultats d'Ensemencement 36
Tableau N°11 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons étudiés
Tableau N°12 : Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés
Tableau N°13 : Résultats de l'antibiogramme des échantillons étudiés
Tableau N°14 : Résultats des galeries 20 E des échantillons étudiés
Tableau N°15 : Résultats des galeries 20NE des échantillons étudiés
Tableau N°16 : Distribution des germes et des taux d'infection
Tableau N°17 : Distribution des germes identifiés dans le prélèvements vaginales61
Tableau N°18 : Interprétation des résultats des galeries API 20E
Tableau N°19 : Interprétation des Résultats d'API 20 NE
Tableau N°20 : Statistiques des accouchements durant notre période d'étude dans la maternité AOURAL ZOHRA

Liste des annexes

Annexe N°01: Composition des milieux de cultures	55
Annexe N°02 : Anatomie de l'appareil génital féminin	58
Annexe N°03: Résultat d'examen cytobactériologique des PV du 21 éme prélèvement	59
Annexe N°04 : Résultats de l'antibiogramme des PV du 21 ^{éme} prélèvement	60
Annexe N°05: Distribution des germes et taux d'infections	61
Annexe N°06: Interprétation des Résultats d'Api20E et Api 20NE des échantillons	62
Annexe N°07 : Coloration de Gram des échantillons étudiés	65
Annexe N°08: Technique d'antibiogramme	66
Annexe N°09: Technique d'identification microbienne commerciale	67
Annexe N°10: Résultats d'ensemencements	68
Annexe N°11 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons étudiés	70
Annexe N°12 : Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés	72
Annexe N°13 : Statistiques des accouchements durant notre période d'étude dans la mate	
AUUNAI LURNA	13

Introduction

Les infections vaginales relèvent d'une altération de la flore vaginal et le remplacement de la flore normale où dominent des lactobacilles par d'autres espèces bactériennes qui se multiplient anormalement et créent un déséquilibre qui rend l'organisme et en particulier la flore vaginale (**Ngaba et** *al.*, **2014**).

Elles peuvent avoir de graves conséquences chez 15 à 25% des femmes enceintes : les fausses couches, la rupture de la poche des eaux avant le début du travail et accouchement avant terme...etc; dont elles occupent le deuxième rang (15%) parmi les causes contributives de décès maternels dans le monde où elles comptent pour 36% de tous les décès de nouveauné et 86% des décès néonataux (Saizounou et al., 2014; Bonola, 2014).

L'inflammation du vagin est associée à trois principaux types d'infection vaginale plus courants chez les femmes enceintes: vulvovaginite à *Candida*, vaginose bactérienne, vulvovaginite à *Trichomonas* et qui sont caractérisées par un écoulement vaginal anormal (leucorrhée) qui est définie par une multiplication pluri microbienne de bacteroides, d'un bacille incurvé mobile aujourd'hui dénommé *Mobiluncus* et de coques anaérobies, découvert la première fois par Curtis en 1914 (**Prudhomme et al., 2007 ; Tchelougou, 2012).**

La présence de tout leucorrhée ne signifie pas obligatoirement la présence d'une infection aussi comme n'est pas obligatoire d'avoir des signes lors d'une infection dont en trouve jusqu'à 30 % des femmes enceintes se retrouvent avec une infection vaginale asymptomatique (**Bonala**, 2014).

A la lumière de ces données, notre travail consiste à faire des examens cytobactériologiques des leucorrhées des femmes enceintes afin de rechercher et de déterminer les agents microbiens responsables des infections vaginales.

I.1. Historique

En 1914, Curtis est le premier quia associé les leucorrhées vaginales à une multiplication plurimicrobienne de bacteroides, d'un bacille incurvé mobile aujourd'hui dénommé *Mobiluncus* et de coques anaerobies. Il rend déjà ces espèces anaérobies responsables aussi d'endométrites du post-partum, le terme de « vaginite non spécifique «va regrouper toutes les infections vaginales ne relevant pas de la multiplication d'un micro-organisme reconnu pathogène, tel que *Trichomonas vaginalis* ou *candida albicans* (Alain et al., 2000).

En 1955, Gardner et Dukes décrivent un syndrome caractérisé par un écoulement vaginal malodorant, un pH vaginal plus élevé que normalement (<5), absence de *Lactobacilles*, et présence de cellules d'aspect particulier, les *clue-cells*. Celles-ci sont des cellules de l'épithélium vaginal recouvertes par un très grand nombre de *coccobacilles* à Gram négatif que Gardner et Dukes rendent responsables de la vaginite. Ils proposent d'appeler cette nouvelle espèce bactérienne, *Haemophilus vaginalis*. Cette bactérie avait en fait déjà été isolée en 1954 par Léopold dans l'écoulement urétral d'un homme ayant une prostatite et les leucorrhées de femmes ayant une cervicite. La description faite par Gardner constitue toujours aujourd'hui la base sur laquelle repose le diagnostic bioclinique de la vaginose bactérienne (**Prudhomme et al., 2007**).

Haemophilus vaginalis est devenu Corynebacterium vaginalis; puis en 1980 Gardnerella vaginalis. Nous ont utilisons des techniques d'isolement plus sensibles et des milieux de culture sélectifs, que cette bactérie pouvait aussi être isolée chez des femmes en absence de leucorrhée, puis que de nombreuses autres espèces bactériennes anaérobies en particulier – se multipliaient également au cour du syndrome décrit par Gardner. Un consensus s'est réalisé en 1984 pour lui donner le nom de vaginose bactérienne (VB) rendant mieux compte de l'absence habituelle d'inflammation vaginale et de la multiplication à côté de Gardnerella vaginalis, d'autres espèces bactériennes (Prudhomme et al., 2007).

Une avancé dans le management de la VB eut lieu quand on s'aperçut que le métronidazole prescrit pour traiter les vaginites à *Trichomonas* était toujours efficace quand une VB lui était associé. Avec la mise en évidence de risques accrus d'infection du

liquide amniotique et de chorioamniotite au cours d'accouchements prématurés une

nouvelle étape était abordée qui poursuit à ce jour, celle de la découverte et de la

caractérisation des complications sérieuses que peut entraîner une affection jugée jusque la

dépourvue de toute gravité (Alain et al., 2000).

I.2. Définition

Les infections vaginales constituent l'un des motifs de consultation les plus courants

en gynécologie. Ces infections relèvent d'une altération de l'écosystème vaginal, et le

remplacement de la flore normale où dominent des lactobacilles par d'autres espèces

bactériennes qui se multiplient anormalement et créent un déséquilibre entrainant une

inflammation (enflure et irritation) du vagin, caractérisée par un écoulement vaginal

anormale, un prurit, avec une odeur, ou une douleur (Ngaba et al., 2014).

I.3. Types d'infections vaginales plus fréquentes au cours de la grossesse

Selon **Prudhomme et al.**, (2007), les trois infections les plus souvent associées aux

pertes vaginales chez les femmes enceintes sont :

• Vulvovaginite à *Candida* : 25 à 40%

• Vaginose bactérienne : 30 à 40%

• Vulvovaginite à *Trichomonas* : 20 à 40%

I.3.1. Vulvovaginite à Candida

La candidose vulvo-vaginale (CVV) est l'une des infections gynécologiques les plus

fréquentes chez la femme en période d'activité génitale (Develoux et Bretagne, 2005),

(Vazquez et Sobel, 2002)

La candidose représente 25 % des affections vulvo-vaginales (vaginoses

bactériennes, vaginites à Trichomonas) (Ronald et Alfa. 1996).

Selon **Bonal** (2014), deux types de CVV peuvent être définis :

• CVV simple

Elle est retrouvée chez 90 % des patientes sans terrain sous-jacent. Elle est caractérisée par un épisode sporadique, une symptomatologie modérée et une prévalence de *C. albicans*.

• CVV compliquée

Elle est définie par la présence d'au moins une des situations suivantes : des signes cliniques sévères, un terrain sous-jacent la grossesse ou un diabète non déséquilibré, et une prévalence des *Candida non albicans*.

C.albicans est responsable de plus de 80 % des candidoses vulvovaginales. Cette espèce sécrète des adhésines permettant sa fixation à la muqueuse vaginale. Les *Candida* ont également la capacité d'exprimer des facteurs de virulence favorisant leur colonisation, en sécrétant des protéinases et des phospholipases. Ceci s'accompagne de modifications morphologiques : *C. albicans* passe de l'état saprophyte sous forme de blastospores à l'état pathogène sous forme filamenteuse. La levure se multiplie et un biofilm se forme sur la muqueuse rendant l'espèce moins accessible aux antifongiques (Bonala, 2014).

I.3.2. Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne constitue une des causes les plus fréquentes de leucorrhées chez la femme en période d'activité génitale. Elle est en effet diagnostiquée chez 15 à 40% des patientes consultants pour une leucorrhée, et chez 15 à 25% de femmes enceintes (**Prudhomme et al., 2007**).

Elle est la condition préexistante à la survenue d'une salpingite due à des anaérobies ou à des mycoplasmes (Vaubourdolle, 2013).

Au cours de la grossesse, le lien entre la vaginose bactérienne et la prématurité est maintenant clairement établi. Sa prévalence est de l'ordre de 7 à 25% de femmes enceintes dans les 16 premières semaines. Les traitements antibiotiques n'ont pas diminué significativement ce risque sans doute parce qu'ils étaient administrés trop tardivement au cours de la grossesse. Le dépistage précoce de la vaginose bactérienne pourrait donc

réduire ce risque. Dans les recommandations de l'HAS 2001, il n'est pas systématique mais proposé aux femmes ayant dans antériorités d'accouchement prématuré, une menace d'accouchement prématuré et des signes de vulvo-vaginites (**Levesque**, 2011).

La vaginose bactérienne résulte d'une modification de la flore vaginale avec le remplacement des *Lactobacillus sp.* Par une association de *Gardnerella vaginalis*, d'éspeces d'anaerobies divers : *Bactéroides sp, Prevotella sp*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus sp, Mobiluncs sp, Eubacterium sp, Fusobacterium sp, Veillonelle sp, et de Mycoplasma hominis* (Vaubourdolle, 2013).

Les lactobacilles (Lactobacillus crispatus, L. jensenii, L. iners, L. gasseri) sont les bactéries prédominantes de la flore vaginale dite normale. Ils assurent le maintien de l'écologie vaginale par la production de peroxyde d'hydrogène, d'acide lactique et de substances inhibant la croissance bactérienne (bactériocines), par leur adhérence aux parois vaginales (biofilm) et par le contrôle du pH vaginal entre 3,8 et 4,5. Ces mécanismes inhibent la multiplication d'autres bactéries dont la présence est possible à l'état normal (Corynebacterium spp, Streptococcus spp, Enterococcus, Gardnerella vaginalis, Mobiluncus spp, Candida albicans). La rupture de cet équilibre conduit à la vaginose bactérienne. (Lepargneur et Rousseau ,2002)

Une bactérie anaérobie résistante au métronidazole, *Atopobium vaginae* a été retrouvée par technique PCR chez les 70% des femmes présentant une vaginose bactérienne. Contrairement aux autres anaérobies, celle-ci n'est pas une composante de la flore normale (**Prudhomme et al., 2007**).

I.3.3. Vulvovaginite à *Trichomonas*

Ce type d'infection vaginale est moins prévalent que les autres types. La trichomonase est une infection sexuellement transmissible. Elle résulte de l'introduction du parasite *Trichomonas vaginalis* dans le vagin à la suite d'un rapport sexuel avec un partenaire infecté. Durant la grossesse, la présence de trichomonas a été associée à un risque accru de 40% que le bébé soit de faible poids et naisse avant terme (**Prudhomme et** *al.*, 2007).

De plus, à cause des effets inflammatoires que le trichomonas occasionne aux parois vaginales, la femme infectée est plus susceptible de contracter le VIH lors d'une relation sexuelle non protégée avec un partenaire infecté (**Levesque**, **2011**).

I.4. Symptômes d'infections vaginales

Le symptôme principal d'infections vaginales est la leucorrhée : correspondent à des écoulements vaginaux en rapport avec une infection génitale. Les symptômes d'infections vaginales sont résumés dans le Tableau suivant (CNGOF, 2010).

Tableau N°01 : Symptômes des principales infections vaginales selon (Vanroyan et *al.*, 2016)

Types d'infections Symptômes	Vaginose Bactérienne	Vulvovaginite à Candida	Vulvovaginite à trichomonas
Pertes	- Claires	- Epaisses - Blanches	- Rares à abondantes
Odeur	- Incommodante - Odeur de poisson	- Non incommodante	- Incommodante
Démangeaison	- Néant	- Démangeaison vulvaire	- Démangeaison vulvaire
Autres Symptômes		- Douleur - Irritation - Dyspareunie - Dysurie	- Dysurie - Douleur dans le bas ventre

I.4.1.Symptômes de la Vulvo-vaginite candidosique (infection à champignons)

Selon **Tchelougou** (2002), les symptômes les plus courants sont :

- Rougeurs sur les parties génitales externes (vulve, périnée la partie entre le vagin et l'anus - et la peau péri-anale).
- Enflure des organes génitaux externes.
- Démangeaisons.
- Douleurs (peuvent être présentes ou pas).
- Sensation de brûlure à la miction (assez fréquente).
- Pertes blanchâtres épaisses, souvent décrites comme ayant la même texture que le fromage cottage (fréquentes, mais le volume peut varier de peu à beaucoup trop abondant).
- Odeurs (relativement rares).
- Douleurs vulvo-vaginales occasionnelles au moment de la pénétration lors des relations sexuelles.

I.4.2. Symptômes de la Vaginose bactérienne

Selon Tchelougou (2002), les symptômes de la vaginose bactérienne sont :

- Pertes vaginales (crémeuses et de couleurs variables).
- Odeur de poisson (parfois plus prononcée après les relations sexuelles).
- Sensation de brûlure (parfois plus prononcée durant ou après les relations sexuelles).
- Crampes abdominales ou ballonnements.
- Rougeurs et démangeaison des organes génitaux internes et externes (intensité variable).

I.4.3. Symptômes de la Vaginite à Trichomonas

Selon Tchelougou (2002), les symptômes de la Vaginite à Trichomonas sont :

- Pertes vaginales (souvent verdâtres).
- vaginales Changement dans l'odeur des sécrétions.

• Démangeaisons des organes génitaux (parfois très intenses).

I.5. Principales causes d'acquisition des infections vaginales dans la grossesse

Les infections vaginales peuvent être provoquées par des bactéries, des levures et d'autres microorganismes.

Selon Levesque (2011), les conditions suivantes augmentent les risques d'infection :

- Abaissement du taux d'acidité (élévation du pH) des sécrétions vaginales :
 lorsque l'acidité vaginale est réduite, le nombre de bactéries protectrices présentes
 habituellement dans le vagin diminue, tandis que le nombre de bactéries qui
 provoquent une infection augmente.
- Manque d'hygiène : lorsque la sphère génitale n'est pas maintenue propre, le nombre de bactéries augmente, et cela accentue la probabilité d'infections bactériennes.
- **Sous-vêtements étroits et peu absorbants :** ce type de sous-vêtements peut retenir l'humidité, ce qui favorise le développement de bactéries et de levures.
- Lésions tissulaires : si les tissus pelviens sont lésés, les défenses naturelles du corps sont affaiblies. Les lésions peuvent provenir de tumeurs, d'une intervention chirurgicale, d'une radiothérapie ou d'anomalies structurelles telles que des malformations congénitales ou des fistules. Les fistules sont des connexions anormales entre les organes qui peuvent, par exemple, permettre au contenu de l'intestin (dont les bactéries) de pénétrer dans le vagin.
- Irritation : l'irritation des tissus vaginaux peut provoquer des fissures ou des ulcères, qui laissent dès lors les bactéries et les levures pénétrer dans la circulation sanguine.

Selon Vanroyan et al, (2016), les problèmes intimes pendant la grossesse dépendent plus précisément de trois facteurs principaux :

- Affaiblissement des défenses dans l'organisme.
- Augmentation de la taille de l'utérus.

• Augmentation de la rétention de liquides: La rétention d'eau est un phénomène très courant pendant la grossesse. Elle est due à une quantité d'eau plus importante dans l'organisme et une bonne circulation sanguine.

L'affaiblissement des défenses immunitaires rend l'organisme moins combatif face aux infections; l'utérus, plus gros, comprime les organes vitaux, dont la vessie, réduisant ainsi sa capacité de stockage de l'urine et enfin, l'augmentation de la rétention de liquides peut entrainer une prolifération des bactéries. Cumulés, ces facteurs favorisent le développement d'infections vaginales (**Rubin**, 1993).

I.6. Germes plus fréquents responsables des infections vaginales

Une infection vaginale est le plus souvent causée par des champignons ou des bactéries : lorsque le milieu vaginal est perturbé (rapports sexuels fréquents, règles,.. etc.), ces germes peuvent avoir tendance à se multiplier (**Prudhomme et al., 2007**).

I.6.1. Composition de la flore commensale vaginale

On appelle flore un ensemble de microbes qui vivent dans un organisme. Généralement, il s'agit de bactéries (**Berrebi et Ayoubi, 1999**)

La flore bactérienne dominante est composée d'une diversité de lactobacilles qui appartiennent essentiellement aux espèces *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii*, et *Lactobacillus iners*. La concentration usuelle des *lactobacilles* en l'absence de pathologie est située entre10⁵ et 10⁸ bactéries par gramme de sécrétion vaginale, Les principales espèces bactériennes d'intérêt médical retrouvées dans le milieu vaginal et leur origine écologique (Lansac, 2006)

Chez la femme indemne d'infection, le vagin héberge déjà 30 % de *Candida albicans* et bien d'autres germes qui ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions. Le *bacille de Dôderlein* est un *Lactobacillus acidophilus* (bacille gram+), immobile, aérobie, saprophyte habituel du vagin. Les autres germes rencontrés dans le vagin normal sont des aérobies (*Lactobacillus sp*) et anaérobies (*Bifidobactérium*) présents en quantité plus ou moins importante mais toujours minoritaire (**Rubin**, 1993).

La composition de la flore vaginale varie en fonction de la période de la vie génitale de la femme de la naissance à la puberté et après la ménopause, la flore vaginale est essentiellement constituée de germes d'origine cutanée et digestive (*corynébactérie*, *entérobactérie*, *bactéroïde ssp...*) (**Tab.N°02**) (**Rubin**, **1993**).

Tableau N°02 : Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée (Lansac, 2006).

Flore dominante GROUPE 1 :	Flore bactérienne: le portage habituel et spécifiquement adaptée à la cavité vaginale: -Lactobacillus sp (Bacilles de Dôderlein) - Corynebactéries - Streptocoques.
Flore dominante GROUPE 2 :	Elle est observée chez 2 à 80% des femmes selon les bactéries impliquées. Elle est constituée de : -Entérobactéries (Escherichia coli, Proteus) Anaérobies (Clostridium sp, Bacteroides, Mobiluncus) -Gardnerella vaginalis Candida albicans - Mycoplasmes (Ureaplasma, Mycoplasme hominis)
Flore exceptionnelle GROUPE 3	Elle est observée chez 0,1 à 2% des femmes selon les bactéries en cause. Toutes les bactéries oropharyngées peuvent être isolées de la cavité vaginale mais le plus souvent il s'agit de : - Pneumocoques - Haemophilus influenzae et Haemophilus para influenzae - Streptococcus pyogenes, Streptococcus Pneumoniae -Neisseria meningitidis, autres Neisseria et moraxella

I.6.2. Germes impliqués dans les infections vaginales chez les femmes enceintes

Selon **Keit** (2009), les germes les plus identifiés dans les PV des femmes enceintes sont présences dans le tableau suivant :

Tableau N°03: Composition de la flore vaginale avant la puberté, pendant la grossesse et après la ménopause selon (**Keit, 2009**)

Espèce bactérienne	Effectif de femmes positives		
	Prépuberté	Grossesse	Post-ménopause
Lactobacillus sp	11(10 ⁵)	92(10 ⁷)	49(10 ⁵)
Staphylocoques	68	86	59
Corynébacteries	42	78	58
Streptocoques α hémolytiques	42	59	74
Gardenella vaginalis	0	58	27
Bacilles anaérobies à Gram négatif	89(10 ⁷)	90(10 ⁴)	89(10 ⁴)
Peptostreptococcus sp	89(10 ⁷)	92(10 ⁵)	88(10 ⁵)
Mycoplasma hominis	0	23	0
Ureaplasma urealyticum	20	82	13

Au cours de la grossesse, la richesse en glycogène de l'épithélium vaginal s'accroît considérablement. Cela entraîne une augmentation de l'acide lactique et donc par conséquent une augmentation de l'acidité vaginale défavorable à la prolifération de différents agents infectieux excepté les levures (Berrebi et Ayoubi,1999)

I.7. Diagnostic d'une infection vaginale

Chez la femme enceinte, la vaginose bactérienne (VB) et le trichomonas sp peuvent entraîner des complications – rupture de la poche des eaux avant le début du travail et accouchement avant terme. Les femmes à risque d'infection de ce type devront donc faire un dépistage qu'elles soient symptomatiques ou non (**Tab.** N°04) (**OMS**, 2005).

Tableau N°04 : Diagnostic différentiel et fréquence des principales vaginites selon (Delcroix et Cheront , 1994)

	Vaginite à <i>Candida</i> Vaginose bactérienne		Vaginite à Trichomonas	
Leucorrhées				
•Couleur	Blanchâtre	Grisâtre	Verdâtre/j aune	
• Aspect	« cailleboté »	Homogène fluide	Mousseux	
• Adhérence	Oui	Non	Peu	
• Odeur	Non	Oui	Parfois	
Symptômes	Prurit intense	absent ou discret	dyspareunie	
	Brûlures	sensation d'irritation		
	Dyspareunie	prurit, brûlures		
Signes inflammatoires	++ à +++	+ - ou ±		
pH vaginal	<4	<4.5	>4.5	
Test à l'odeur	-	+		
Examen extemporané	Levures	Clue-cells Trichomo		
Prévalence(%)	25 à 40	30à 40	20 à 40	

⁽⁺⁾ Présent (-) Non présence (±) Peut être présent comme peut ne pas être présent

⁽⁺⁺⁾ Présence (+++) Trop présents

• Test à l'odeur = test à la potasse (=Sniff -test)

Le fait d'ajouter une goutte de solution de potasse à 10% sur une goutte de leucorrhée prélevée sur lame à l'état frais, libère une odeur désagréable (poisson pourri) due à la libération d'amines aromatiques produites en présence d'une prolifération importante de germes anaérobies (Cardinale, 2001).

• Clue-cells

On observe au microscope au grossissement 40, entre lame et lamelle avec 1 goutte de liquide physiologique :

- La présence de nombreux micro-organismes de petite taille, souvent agglutinés en grappe et remplaçant la flore de lacto-bacilles normale.
- La présence de cellules indicatrices, les Clue-cells, cellules épithéliales à contours mal définis, tapissées d'innombrables petits bacilles (Bactéroïdes, Mobiluncus)

• pH

Abaissé entre 4 et 4.5, le pH est un argument de candidose, alors qu'une valeur> 5 oriente vers une autre étiologie, une *trichomonas* ou une infection mixte (**Lunardo et al.**, **1999**).

I.7.1. Diagnostic de la vulvovaginite à Candida

Le diagnostic de la CVV nécessite la tenue d'un examen pelvien. La présence concomitante d'un écoulement épais de couleur blanche et d'un prurit vulvaire ne dispose pas, à elle seule, de la sensibilité et de la spécificité nécessaires à l'établissement d'un diagnostic. La présence d'érythème et d'œdème en ce qui concerne les tissus vulvaires et vaginaux, conjointement avec celle d'un écoulement vaginal épais, blanc et grumeleux, permet de soutenir le diagnostic. Les sécrétions vaginales de la CVV présentent un pH<4,5. De plus, la présence de filaments pseudo-mycéliens et d'un bourgeonnement de levure peut être constatée dans une préparation à l'état frais. Le test à la potasse est négatif et la coloration de Gram pourrait révéler la présence de cellules poly morpho nucléaires, de filaments pseudo-mycéliens et d'un bourgeonnement de levure. Lorsque les résultats indiquent la présence d'une CVV compliquée, le prélèvement de sécrétions vaginales à des fins de mise en culture et de spéciation de la levure en cause pourrait contribuer à

l'orientation du traitement, en raison de la probabilité accrue de la présence de souches autres que *Candida albicans* dans de tels cas (Julievan et *al.*, 2015).

I.7.2. Diagnostic de la vulvovaginite à *Trichomonas*

T. vaginalis est détectable par l'examen extemporané d'un frottis vaginal à l'état frais entre lame et lamelle (CNGOF, 2006).

Idéalement, le transport vers le laboratoire devrait s'effectuer rapidement afin d'assurer la viabilité de l'organisme. Bien que l'organisme puisse être détecté au moyen d'un test de Papanicolaou, une telle détection n'est pas considérée diagnostique en raison de la faible sensibilité de ce test en ce qui concerne *T. vaginalis* (**Cardinale, 2001**).

I.7.3. Diagnostic de la vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne peut être diagnostiquée de façon clinique et/ou microbiologique. Les critères diagnostiques cliniques publiés en 1983 par Amsel et coll, toujours utilisés de nos jours, recommandent l'établissement d'un diagnostic de vaginose bactérienne lorsque trois des quatre facteurs suivants sont présents: écoulement vaginal adhérent et homogène; pH vaginal supérieur à 4,5; détection de cellules indicatrices (cellules épithéliales vaginales recouvertes si abondamment de bactéries que leurs contours s'en trouvent estompés) dans une préparation à l'état frais faisant appel à une solution saline; et/ou odeur d'amine à la suite de l'ajout d'hydroxyde de potassium (test à la potasse positif). Aux fins du diagnostic de la vaginose bactérienne, la coloration de Gram des sécrétions vaginales constitue la méthode microbiologique la plus vastement utilisée et celle qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études. La plupart des laboratoires utilisent un outil diagnostique objectif qui quantifie le nombre de morphotypes Lactobacilles et de bactéries pathogènes en vue d'établir un score qui est utilisé pour déterminer si l'infection est présente. Le système le plus couramment utilisé a été développé par Nugent et ses collègues, et est connu sous le nom de score de Nugent. L'obtention d'un score de 7 ou plus permet l'établissement d'un diagnostic de vaginose bactérienne. Un score se situant entre 4 et 6 est considéré comme intermédiaire, tandis qu'un score se situant entre 0 et 3 est considéré comme normal (Julievan et al., 2015).

I.8. Traitement des infections vaginales pendant la grossesse

Les infections vaginales au cours de la grossesse peuvent être sexuellement transmissibles ou non. Il faut les traiter car elles peuvent avoir un retentissement sur le bon déroulement de la grossesse (**Tab.N**°05).

Tableau N°05: Traitement recommandé contre l'infection vaginale (OMS, 2005)

	Premier choix	Autres médicaments hautement efficaces	Si la femme est enceinte ou allaitante
Vaginose Bactérienne Trichomonas	- Métronidazolea 2 g, par voie orale en dose unique. Ou - Métronidazolea400 ou 500 mg, par voie orale deux fois par jour pendant7 jours.	- Clindamycine crème à 2 %, un applicateur entier (5 g), par voie intra vaginale, au coucher, pendant 7 jours. ou - Clindamycine 300 mg par voie orale2 fois par jour pendant7 jours Tinidazolea 2 g, par voie orale, en dose unique. ou -Tinidazolea 500 mg, par voie orale deux fois par jour pendant5 jours.	De préférence après le premier trimestre - Métronidazolea 200 ou 250 mg par voie orale 3 fois par jour pendant7 jours. ou - Métronidazolea gel à 0,75 %, un applicateur entier (5 g) par voie intra vaginale 2 fois par jour pendant 5 jours. ou clindamycine300 mg par voie orale deux fois par jour pendant 7jours
Candidose	- Miconazole 200mgovule vaginal, un par jour pendant 3 jours. ou - Clotrimazoleb100mg, comprimés vaginaux, deux par jour pendant 3 jours ou -Fluconazole150mg comprimé oral en dose unique.	- Nystatine 100 000 unité comprimé vaginal, 1 par jour pendant 14 jours.	- Miconazole200 mg Suppositoire vaginal, un par jour pendant 3 jours, ou -Clotrimazol 100mgcomprimésvaginaux, deux par jour pendant 3jours ou - Nystatine 100 000unité comprimé vaginal, 1 par jour pendant 14 jours.

I.8.1. Traitement de la vulvo-vaginite à Candida

Pendant la grossesse, la CVV peut être prolongée et associée à des symptômes plus graves, et la résolution de ceux-ci nécessite habituellement un traitement de plus longue durée. Seule l'utilisation d'azoles topiques est recommandée pendant la grossesse. La mise en œuvre d'un traitement à l'imidazole en crèmes externes et en ovules intra vaginaux pendant une période pouvant atteindre 14 jours pourrait s'avérer requise. La mise en œuvre de traitements répétés pourrait également s'avérer nécessaire. L'utilisation de fluconazole oral devrait être évitée pendant la grossesse, car elle pourrait accroître le risque de tétralogie de Fallot. L'innocuité du fluconazole oral au cours des deuxième et troisième trimestres n'a pas fait l'objet d'études. L'administration intra vaginale d'acide borique a été associée à un risque plus que doublé d'anomalies congénitales lorsqu'elle est mise en œuvre au cours des quatre premiers mois de la grossesse. Elle devrait donc être évitée au cours de cette période (Julievan et al., 2015).

I.8.2. Traitement de la Vulvovaginte à Trichomonas

La présence d'une infection à *T. vaginalis* pendant la grossesse a été associée à l'accouchement pré terme. Lorsque la patiente est symptomatique et que les tests révèlent la présence d'une infection, la mise en œuvre d'un traitement est justifiée. Une certaine controverse entoure le dépistage et la prise en charge de l'infection chez les femmes asymptomatiques qui comptent des antécédents d'accouchement pré terme ou de rupture prématurée des membranes pré terme. Certaines études ont constaté que de telles interventions s'avéraient avantageuses, tandis que d'autres ont plutôt constaté des taux accrus d'accouchement pré terme chez les patientes traitées. L'utilisation de métronidazole pendant la grossesse est considérée comme étant sûre ; de nombreuses méta-analyses indiquent que le métronidazole ne donne pas lieu à une hausse du risque d'effets tératogènes. La dose de métronidazole dont l'utilisation est recommandée pendant la grossesse est la même que celle qui est recommandée en l'absence de grossesse (Julievan et al, 2015).

I.8.3. Traitement de la vaginose bactérienne

La présence d'un écoulement vaginal est courante pendant la grossesse et pourrait être physiologique. Chez les femmes qui connaissent des écoulements persistants, la tenue d'un dépistage des infections affectant les voies génitales inférieures (vaginales et cervicales) est recommandée. Lorsqu'un diagnostic de vaginose bactérienne est établi chez une femme enceinte symptomatique, la mise en œuvre d'un traitement s'avère indiquée. Les lignes directrices de l'ASPC sur les ITS recommandent l'utilisation de métronidazole, à raison de 500 mg par voie orale deux fois par jour pendant sept jours, ou de clindamycine, à raison de 300 mg par voie orale deux fois par jour pendant sept jours. L'utilisation d'agents topiques n'est pas recommandée. Le traitement donne lieu à des taux de réussite relativement modérés, certaines femmes en venant à connaître des taux élevés de récurrence pour une discussion détaillée sur les implications de la vaginose bactérienne pendant la grossesse et sur ses liens avec les issues de grossesse indésirables (Cardinale, 2001).

I.9. Moyens de lutte contre les infections vaginales

Selon **Cardinale** (2001), les meilleurs moyens de lutte contre toute infection vaginale sont comme suit :

• Toilette quotidienne externe

Il faut conseiller des produits adaptés à la physiologie féminine, ni trop acides, ni trop alcalins. Pour la toilette quotidienne de la vulve principalement, le vagin étant considéré comme autonettoyant, on conseillera un produit de toilette aux propriétés adoucissantes et protectrices à pH neutre ou alcalin si la femme souffre souvent d'infection vaginale.

• Douches vaginales

Elles altèrent la flore vaginale. Elles ne doivent pas être pratiquées plus de deux fois par semaine, ni dans les 24 heures qui précèdent un examen gynécologique ou un prélèvement.

• Port de vêtements serrés

Il faudrait conseiller de faire attention aux pantalons très moulants et aux sousvêtements en fibres synthétiques qui favorisent le développement des infections.

• Lutter contre le stress

En raison de la production de béta - endorphine, le stress et l'anxiété sont également des facteurs importants de déséquilibre de la flore vaginale.

Ainsi selon **Rubin** (1993), les meilleurs conseils pratiques pour éviter toute contamination sont comme suit :

- Respecter le partenaire et éviter d'avoir des relations lorsque l'on présente un écoulement de couleur qu'il soit vert, bleu, grisâtre ou blanc épais.
- Uriner si possible avant un rapport pour éviter une congestion locale trop active qui pourrait être à l'origine de petites traumatismes, donc de petites érosions perméable aux microbes.
- Ne pas hésiter, devant tout signe anormal, à demander à son médecin des analyses bactériologiques.
- Refuser les traitements minute qui laissent toujours subsister des microbes ou des parasites.
- Choisir comme désinfectant général, qui est de l'eau de javel très diluée, parce que seul ce produit a une action antivirale et une action antimicrobienne reconnues.
- Faire une toilette intime dans les dix minutes qui suivent un rapport sexuel. Il est rare que les germes aient eu le temps de s'installer au moment de leur installation.

II.1. Objectif

L'objectif de notre travail est la détermination des agents responsables des infections vaginales chez les femmes enceintes par des examens cytobactériologiques des pertes (Leucorrhées).

II.2. Lieu et durée du travail

- Notre travail a été déroulé en deux lieux :
- La maternité AOURAI ZOHRA de la wilaya de Tiaret.
- Le laboratoire de Microbiologie de faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun Tiaret.
 - La durée de notre travail a été du 04 Février 2018 au 31 Mars 2018.

II.3. Matériel

II.3.1. Matériel biologique

C'est une série de 20 échantillons des pertes vaginales pratiqués sur des patientes de la maternité avant leur accouchement et qui sont dans le tableau N^o 06 :

Tableau N°06 : Déroulement des prélèvements des pertes vaginales

Date de	Numéro	Age de la	Date d'entrée	Nombre de	Nombre
Prélèvement	d'échantillon	patiente	de la patiente	grossesse	d'enfants
			à la maternité		
	01	24	05/02/18	01	00
	02	36	05/02/18	03	02
07/02/2019	03	35	06/02/18	03	02
07/02/2018	04	26	05/02/18	02	01
	05	24	05/02/18	02	01
	06	30	08/02/18	02	01
	07	38	10/02/18	02	01
11/02/2018	08	20	07/02/18	01	00
11/02/2016	09	34	08/02/18	02	01
	10	32	10/02/18	01	00
	11	27	17/02/18	01	00
	12	27	16/02/18	03	02
18/02/2018	13	26	18/02/18	02	01
10/02/2010	14	36	17/02/18	02	01
	15	29	12/02/18	03	02
	16	28	21/02/18	02	01
	17	22	21/02/18	01	00
22/02/2018	18	22	21/02/18	02	00
44/04/4018	19	29	21/02/18	02	01
	20	26	20/02/18	03	02

II.3.2. Matériel du laboratoire

Les différentes verreries et appareillages utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le tableau N° 07 :

Tableau $N^{\circ}07$: Appareillages, verreries et autres

Verrerie	Autres
 Tube à essai Flacons Becher Éprouvette Pipettes Pasteur Capillaires Lames 	Boites de Pétri-Micro pipette –Ance de platine-barreau magnétique- bec bunsen- Ecouvillons - Gants - Masques chirurgicaux- Papiers absorbants -Pince en bois- Pince métallique – portoirs de tube –Support pour lames- Seringue stérile
]	Tube à essai Flacons Becher Éprouvette Pipettes Pasteur Capillaires

II.3. 3. Produits utilisés

Les produits et les milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau N°08: Réactifs, Milieux de culture et Colorants

Produits			
Colorants	Milieux de	Réactifs	Autres
	culture		
Bleu de Méthylène	Chapman	TDA	Eau distillée
Violet de Gentiane	Hektoen		Eau physiologique
Fushine de Zihel	Mac Conkey	VP1	Eau de javel
	Salmonella-		Huile d'immersion
	Shigella(SS)	VP2	Huile de paraffine
	Sabouraud		NaCl
	Gélose nutritive	Nitrate1	NaoH
	Bouillon nutritif		H_2O_2
	Muller-Hinton	Nitrate2	Alcool 90°
	Agar-agar		Disque d'oxydase
			Disque d'ONPG
			Galerie (API20E et
			API20NE)

La composition des milieux de culture est mentionnée dans l'annexe n°01.

II.4. Méthodes

II.4.1. Protocole expérimental

Les étapes suivies dans notre travail sont détaillées dans la figure N°01.

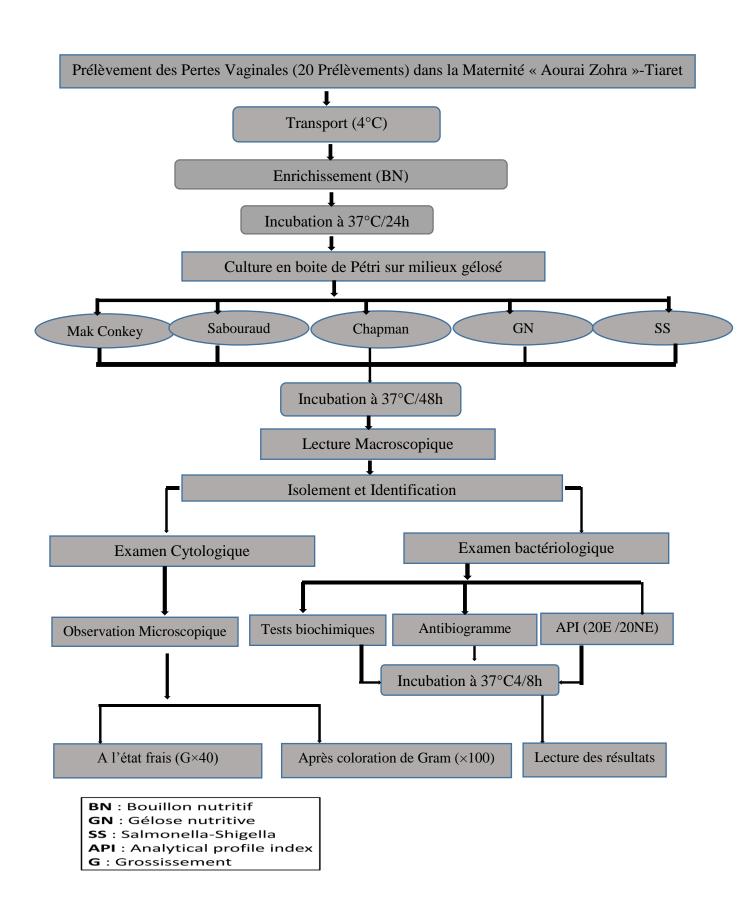


Figure N°01 : Schéma du protocole expérimental

II.4.2. Prélèvements des pertes vaginales

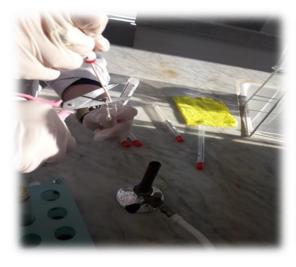
Les prélèvements ont été faits sur les pertes vaginales des femmes enceintes de la maternité à l'aide des écouvillons stériles en présence d'une sage-femme.

> Procédure du prélèvement

- 1. Prendre des écouvillons stériles.
- 2. Etaler un carré de drap d'examen sur la table gynécologique.
- 3. Installer la patiente en position gynécologique
- **4.** Eclairer avec la lampe d'examen
- **5.** Porter les gants.
- 6. A l'aide d'un écouvillon, prélever les sécrétions au niveau du cul de sac postérieur.
- 7. Libérer la patiente, jeter le drap d'examen utilisé dans la poubelle des objets non contaminés.
- 8. Acheminer échantillon au niveau de laboratoire.

II.4.3.Enrichissement dans des Bouillons nutritifs

Dans une zone d'asepsie on prend les écouvillons des prélèvements et à l'aide des ciseaux stériles on les coupe et on les pose directement dans des tubes qui contiennent le Bouillon nutritif (**Fig.2-3**).



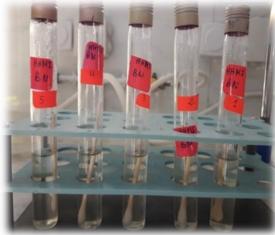


Figure N°02 : Découpage des écouvillons

Figure N°03: Enrichissement dans BN

Et enfin ont les met dans un incubateur qui est réglé à une température de 37°C pendant 48h (AOA, 2002).

II.4.4. Ensemencement sur milieux de culture sélectifs

Avant tout ensemencement et dans une zone d'asepsie on coule les cinq milieux de culture (Chapman, Mac Conkey, SS, Sabouraud, GN) dans des boites de Pétri, et après leurs séchages et refroidissement, on prend quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'un capillaire et on les déposent dans la boite gélosé puis à l'aide d'une pipette on effectue des stries dans un mouvement de va-et-vient uniquement sur la surface (Fig.4 et 5), puis on refait la même technique pour le reste des boites (**Dellaras,2007**)



Figure N°04 : Dépôt des gouttes

Figure N°05 : Ensemencement de suspension bactérienne.

II.4.5.Examen Cytologique

On a réalisé l'examen cytologique des échantillons en suivant les étapes suivantes :

II.4.5.1. Observation macroscopique est base sur l'observation de :

• La couleur et l'odeur des pertes.

II.4.5.2. Observation microscopique a l'état frais

a. Principe

L'examen à l'état frais consiste sur l'observation microscopique des bactéries vivantes. Cette méthode permet de mettre en évidence :

- Morphologie des bactéries.
- Mobilité: une bactérie mobile doit se déplacer dans le champ microscopique avec un mouvement qui lui est propre.
- Le mode de regroupement c'est-à-dire comment elles sont disposées ; libre ou liées.

b. Technique

Toujours dans une zone d'asepsie :

- 1. On prend une lame propre
- 2. On dépose une goutte d'eau distillée
- 3. On prend une petite colonie de la boite Pétrie à l'aide d'une l'anse de platine stérile.
- 4. Homogénéiser la suspension diluée très bien.
- 5. Recouvrir d'une lamelle stérile au-dessus de la lame.

6.c. Lecture

Observation de la mobilité à l'objectif x40 : une bactérie est dite mobile si elle se déplace dans le champ du microscope avec un mouvement qui lui est propre, les autres bactéries restant immobiles ou se déplaçant dans une autre direction (**Dellaras**, 2007).

➤ II.4.5.3. Observation microscopique après coloration de Gram

a. Principe

La coloration de Gram est la plus utilisée en microbiologie pour étudier la classification des bactéries. Le processus permet de séparer la plupart des bactéries en 2 groupes par rapport à la proportion de peptidoglycanes contenue dans les membranes :

- Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycanes et pauvres en lipides
- Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycanes et plus riches en lipides (**Dellaras. 2007**).

b. Technique

La coloration de Gram est réalisée selon AOAC (2002) (voir annexe n°07).

> Préparation du Frottis

En effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 min.

> Réalisation de la coloration

La coloration de Gram est réalisée selon Dellaras (2007) (Voir annexe n°07).

c. Lecture (Observation microscopique)

Observer à l'objectif 100 (G ×100) en déposant une goutte d'huile à immersion.

II.4.6.Examen bactériologique

L'examen bactériologique comprend tous les tests classiques, l'antibiogramme et les systèmes d'identifications microbiennes commerciales (Api).

II.4.6.1.Identification biochimique

> Test d'oxydase

a. Principe

Le test d'oxydase met en évidence la présence de cytochrome C dans les chaines respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que ce dernier (**Dellaras**, 2007).

b. Technique

- 1. Sur une lame propre déposer un disque d'oxydase imprégné de diméthylepara-phénylediamine.
- 2. Humidifier le disque avec quelques gouttes d'eau distillée stérile.
- 3. À l'aide d'une pince métallique prendre la bactérie à identifier et la déposer sur le disque (**Dellaras**, **2007**).

c.Lecture

Apparition d'une coloration violette immédiatement : la souche est dite oxydase positive (**Dellaras**, 2007).

> Test de catalase

a. Principe

La catalase dégrade l'eau oxygénée issue de la voie respiratoire oxydative directe en eau et en oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse (Marchal et al., 1982).

b.Technique

Sur une lame et à l'aide d'une pipette pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) (Marchal et al., 1982).

c.Lecture

Catalase (+): effervescence (bulles gazeuses).

Catalase (-): pas d'effervescence (Marchal et al., 1982).

> Test TSI (Triple Sugar-Iron Agar)

a. Principe

La gélose TSI (Triple SugarIron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose et du saccharose (avec ou sans production de gaz) (Marchal et al., 1982).

b. Technique

- 1. Une colonie est ensemencée en réalisant une piqure centrale dans le culot et des stries serrés sur la pente.
- 2. Remettre le bouchon du tube sans le revisser.
- 3. Incubation à 30°C pendant 24 h (Marchal et al., 1982).

c.Lecture

La lecture des résultats est comme suit :

- Lactose-saccharose positif: pente virant au jaune
- Glucose positif: culot jaune
- H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot.
- Production de gaz : présence de bulles de gaz dans le culot (Marchal et *al.*, 1982).

> Test de l'ONPG

a. Principe

Ce test permet de rechercher la présence d'une enzyme intracellulaireβ-galactosidase libérée de la cellule bactérienne qui va agir sur un galactose substitué, l'orthonitrophénylbeta-D-galactopyranoside ou ONPG qui permet l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose par libération d'orthonitrophénol, qui présente une coloration jaune très stable (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

Une suspension de germe à étudier a été dans le l'eau physiologique, par la suite un disque d'ONPG a été ajouté. Enfin, l'incubation a été faite à 37°C pendant 30min (Marchal et *al*, 1982).

c. Lecture

La lecture des résultats a été basée sur la changement de couleur car l'apparition d'une coloration jaune indique que la bactérie a un ONPG positif et l'absence de coloration indique ONPG négatif (Marchal et al., 1982).

➤ Recherche des décarboxylases (LDC; ODC; ADH)

a. Principe

Les décarboxylases bactériennes :-Lysine décarboxylase (LDC).

- -Ornithine décarboxylase (ODC).
- Arginine dihydrolase (ADH).

Sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

- 1. Le test est réalisé avec le milieu Muller réparti dans 4 tubes à hémolyse différents : le premier tube constitue le témoin. Il contient essentiellement du glucose en petite quantité du pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH, les trois autres tubes contiennent en plus du milieu témoins, un des trois acides aminés suivants : Arginine, Lysine ou Ornithine.
- 2. après ensemencement, 1ml de vaseline stérile est ajouté dans chaque tube et le tout sera incubé à 30°C pendant 24 à 48h (Marchal et al., 1982).

c. Lecture

- La réaction est positive lorsque le témoin vire au jaune (acidification du milieu due à l'utilisation du glucose) ; Les tubes contenant l'acide aminé restent violet (phénomène due à l'alcalinisation).
- la réaction est négative lorsque les tubes contenant l'acide aminé et le témoin virent au jaune (acidification) (Marchal et al., 1982).

> Test du citrate de Simmons

a. Principe

Le citrate de Simmons est un milieu de culture utilisant le citrate comme seule source de carbone (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

- 1. La pente du milieu est ensemencée d'une suspension bactérienne, par stries longitudinales au moyen d'une anse.
- 2. Les tubes sont légèrement fermés.

3. L'incubation se fait à 30°C pendant 3 à 5 jours. L'observation a lieu chaque jour (Marchal et *al.*, 1982).

c.Lecture

La croissance de la bactérie sur le milieu indique que cette dernière possède du citrate perméase. Cependant s'il n'y a pas de développement, la bactérie ne possède pas cette enzyme (Marchal et al., 1982).

> Test du mannitol-mobilité

a. Principe

Ce test vérifié dans le milieu mannitol-mobilité, permet la recherche de la mobilité et la fermentation du D-mannose par les bactéries, qui conduit à la formation d'acide à chaines très courtes (acide acétique, acide formique) (Marchal et al., 1982).

b. Technique

Un ensemencement a été effectué par piqure centrale, à partir de culture en milieu semi-solide puis un étuvage a été réalisé à 37°C pendant 24 h (**Marchal et** *al.*, **1982**).

c. Lecture

Si la bactérie est mannitol (+), et mobilité est (+), on observe le jaunissement du milieu avec libération de H₂S (Marchal et *al.*, 1982).

II.4.6.2. Antibiogramme

a. Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus (Marchal et al., 1982).

b. Technique

La standarisation de la suspension bactérienne est égale $\grave{a}(0,5)$ Mc Farland; Elle est réalisée selon (**Richad et** *al.*, **2015**).

c. Lecture

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CMI.

Elle correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24h (**Richad et** *al*, **2015**).

> Mode Opératoire

1. Préparation de la suspension bactérienne

A l'aide d'une l'anse de platine stérilisée en prend des colonies isolées de la boite de pétri qui contienne la souche bactérienne et en les déposes dans des tubes de BN, puis en les incubes à 3°Cpour 24h.

2. Coulage

- -Couler le milieu de culture MH (Muller Hinton) dans des boites de pétris.
- -Laisser prendre en masse.

3. Réglage de la concentration après

- Couler la gélose dans une boite de Pétri
- Laisser prendre en masse
- En prend un spectrophotomètre et en le règle a une langueur d'onde de 625.
- En prend deux tubes à essai l'un qui contient la suspension bactérienne pure et l'autre qui est diluer par le BN
- En remplis la cuve de spectre par la suspension bactérienne diluée pour régler sa concentration qui doit être dans l'intervalle de (0.08-0.13). (si en la trouve supérieure à 0.13 en ajoute le BN propre et si elle est inférieur de 0.08 en ajoute la suspension bactérienne) jusqu'à l'obtention d'une bonne concentration.

4. Ensemencement

- Prélever 2 ou 3 gouttes de la suspension bactrienne de concentration réglée,
 les déposer à la surface de la gélose et les étaler avec un râteau.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée (10 à 15 min).

Déposer les disques de celluloses imprégnées d'antibiotiques (Céfalotine, Rifampin, Gentamicin, Ampicilin, Erythromycine, Doxyciline, Polymixin, Oxaciline, Amoxycilin, Erythromycilin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Lincomicin, Cephalexin).

c.Lecture

L'activité de chaque antibiotique sera appréciée, par le diamètre de l'auréole d'inhibition provoqué autour du disque. La culture bactérienne s'arrête lorsqu'elle rencontre une concentration égale à sa CMI. La mesure du diamètre d'inhibition reflète donc la valeur de la CMI de l'antibiotique, en dit qu'une souche est sensible à un antibiotique si son diamètre d'inhibition est supérieur a (25mm) (**Dellaras**, 2007)

II.4.6.3. Systèmes d'Identifications microbiennes commerciale (la galerie Api 20 E et Api 20 NE).

a .Principe

Une galerie API (analytical profile index) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés (Marchal et al., 1982).

b.Technique

- A l'aide d'une lance de platine stérilisée on a prélevé des grosses colonies isolées des souches bactériennes qui se trouve dans les boites de Pétries puis on les a Inoculé dans les tubes qui contiennent l'eau physiologique stérilisée.
- Préparer et standardiser la suspension bactérienne à (0,5) Mc Farland (Marchal et al., 1982) (Voir annexe n°09).

c. Lecture

- On a ajouté les réactifs appropriés aux compartiments :
- ➤ 1 goutte de réactif de Kovac à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent)
- ➤ 1 goutte de réactif de Barrit A et B au VP (une réaction positive peut prendre jusqu'à 10min)
- ➤ 1 goutte de Fe Cl₃ au TDA2.

- Puis on a fait la lecture de tous les autres tests, sans l'ajout de réactif
- Et enfin on a noté les résultats et comparer les réactions positives avec le tableau de différentiation et on a fait des prises de photos (Marchal et *al.*, 1982).

III. Résultats de l'isolement à partir des prélèvements vaginales

Après l'enrichissement des prélèvements de 20 patientes, on a observé des troubles (changement de couleur) où le milieu devient opaque dans 13 tubes ; cette modification de l'aspect et la couleur du milieu d'enrichissement sera considéré comme indice de présence des germes (**Tab.09**).

Tableau $N^{\circ}09$: Résultats d'enrichissements dans le bouillon nutritif

Echantillon	Observation	Nombre de cas positifs	Résultats observées
01	/		
02	Trouble	3/5	
03	Trouble	(Fig.6)	
04	Trouble	\ U /	
05	/		Figure 6 : Résultats d'enrichissement des échantillons 1, 2, 3, 4 et 5
06	Trouble		THE SECOND SECOND SECOND
07	Trouble	3/5	
08	/	(Fig.7)	
09	Trouble	(1 ig.)	
10	/		Figure 7 : Résultats d'enrichissement des échantillons 6, 7, 8, 9 et 10
11	Trouble		
12	Trouble	4/5	E11 A9 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10
13	Trouble	(Fig.8)	
14	Trouble	(115.0)	
15	/		Figure 8 : Résultats d'enrichissement des échantillons 11, 12, 13, 14 et 15
16	Trouble		70 (20) (20) (20)
17	/	3/5	
18	Trouble	(Fig 0)	
19	/	(Fig.9)	
20	Trouble		Figure 9 : Résultats d'enrichissement des échantillons 16, 17, 18, 19 et 20
Effect	if Total	13/20	22, 21, 20, 27

(/) : Pas de changement

Après l'ensemencement des vingt prélèvements dans cinq milieux différents; l'incubation se fait pendant 48h. Nous avons fait l'observation macroscopique comme première étape de lecture des résultats mentionnés dans (**Tab.10-Fig.9**, **10,11**, **12**).

Tableau N°10 : Résultats d'Ensemencements après incubation

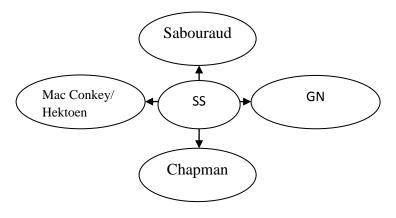
Milieu Echantillon	SS	Hektoen Mac conkey	Chapman	Sabouraud	GN
01	/	/	Des petites colonies en amas	Petites colonies blanche jaunâtres	Des grandes colonies blanches
02	Des grandes colonies jaunes avec un centre noir	Des grandes colonies	/	Des petites colonies en chainettes	Des petites colonies blanches en amas
03	Des grosses colonies jaunes à centre noir en chainettes et en amas	Des petites colonies marron séparées et d'autres marrons en chainettes	/	Des trop petites colonies en chainettes blanches	Des grandes colonies blanches séparées et d'autres en chainettes
04	Des grandes colonies jaunes de centre noir séparer et en chainettes	Des grandes colonies marron séparées	Des trop petites colonies blanches en amas	Des petites colonies blanches et un grand champignon	Des petites colonies blanches en chainettes
05	Des grandes colonies noire sur le tour de la boite de pétri	/	Trop petites colonies en amas	/	Des petites colonies blanches séparées
06	/	/	Des petites colonies blanches distribuées	/	Des grandes colonies en amas blanches jaunâtres
07	Des petites colonies noires en chainettes	Présence des grandes colonies vertes et jaunes en chainettes	/	Présence des grandes colonies jaunes et blanches séparées	Toute la boite colorée en vert en présence des colonies vertes.
08	/	/	/	/	/

09	Des grandes colonies noires en amas et des petites colonies séparées	Toute la boite est colorée en vert en présence des colonies	Présence des colonies en chainettes jaunes	Des petites colonies jaunes en amas sur le tour de la boite	Trop petites colonies blanches en amas
10	/	/	/	/	/
11		/	/	/	/
12		Des grandes colonies jaunes séparées	Des petites colonies blanches	/	Des petites colonies blanches en chainettes
13			Des trop petites colonies blanches en chainettes	7	Aucune observation
14			Des petites colonies blanches séparées et en chainettes	Présence des levures	Des petites colonies blanches séparées
15		/	/	Présence des levures	Boite contaminée
16		Des petites colonies roses	/	Des petites colonies blanches jaunâtres	Aucune observation
17		/	Des petites colonies blanches séparées	Trop peu de petites colonies blanches	Aucune observation
18		/	Des colonies blanches séparées	/	/
19		/	Des petites colonies blanches	Des colonies blanches en chainettes	Aucune observation
20		Des petites colonies roses	Des petites colonies blanches	/	/

(/) Aucune observation

Les photos des résultats d'ensemencements après incubation sont toutes représentées dans l'annexe $n^{\circ}10$.

Toutes les boites de chaque échantillon sur les photos sont déposées selon la forme suivante :



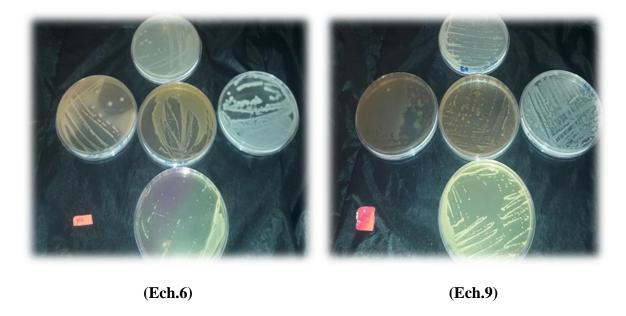


Figure N°10 : Résultats d'ensemencements des échantillons : 6 et 9 après incubation.

D'après les observations macroscopiques de vingt prélèvements; nous avons remarqué une multiplication plus ou moins des germes dans les milieux de Chapman, sabouraud, GN et Hektoen avec une très faible dissémination dans le milieu de SS; Ces observations remarquables nous ont indiquées que les infections touchant les 20 patientes sont de deux types majeurs soit des Entérobactéries soit des staphylocoques ou soit l'association des deux germes dans certains cas.

➤ Dans le cas des échantillons: 1-4-5-6-9-12 et 14 nous avons observé que l'apparition des germes a été combinée dans le milieu de Chapman et GN ;Dans ce cas le germe présent est le *staphylocoque sp*.

Et ainsi chez les échantillons 3-4 et 7 nous avons remarqué que la présence des germes a été dans les milieux GN et Hektoen d'une manière corrèlent dans l'aspect des colonies; Dans ce cas on peut dire que le type de germe présent dans ces prélèvements est de type d'entérobactéries.

- ➤ Pour les autres échantillons 16-17-18-19 et 20 nous avons observé une présence de germe dans un seul milieu, soit dans le milieu Hektoen soit dans Chapman; Dans ce cas le germe présent est un seul type *Entérobactéries sp* ou *Staphylocoques sp*.
- ➤ Comme on a observé aussi dans les échantillons: 1-2-3-4-7-9-14-15-16-17-20 la présence des petites colonies blanches dans le milieu de sabouraud ;Ces colonies sont des levures de type de *Candida sp* ces dernières sont présentes à l'état normal (flore normale) mais peuvent engendrer des infections vaginales lorsque le seuil dépasse les limites ou bien devient très important dans ce cas on assiste à des infections vaginales d'origines de *Candida* ;Aussi ces levures présentent une forme filamenteuses à l'état pathogène.
- ➤ Pour les échantillons8 et 10-11nous avons remarqué l'absence de tout type de colonies dans tous les cinq milieux dans ce cas on peut dire qu'il n'existe pas d'infection chez deux patientes.
- Concernant le milieu de sabouraud nous avons observé la présence de levure chez 55% des femmes enceintes choisies avec une absence remarquable chez les autres ; les levures présentes chez eux ne sont pas fortement pathogènes, ce sont des levures appartient de genre de *Candida*.

III.3. Résultats d'identification biologique

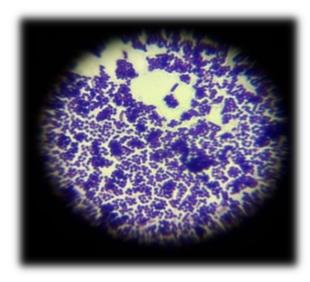
Dans l'étude biologique des prélèvements (examen à l'état frais entre lame et lamelle) dans les milieux de cultures (Sabouraud, Hektoen , chapman et GN) , nous avons remarqué l'absence de la mobilité totale dans les milieux de Hektoen , chapman et GN et une mobilité dans le milieu de sabouraud ; la mobilité observée peut être expliqué par la présence des colonies mobiles.

Après la réalisation de la coloration de Gram pour distinguer les germes à Gram négatif et les germes à Gram positif; nous avons observé la présence des différentes colonies

dans les différents milieux de cultures utilisées (Tab.11). Quelques colonies sont à Gram négatif et les autres à Gram positif.

Tableau N°11 : Résultats de la coloration de Gram

Echantillon	Milieu	Observation
01	Chapman	Coques violets (Gram+)
02	GN	Coques roses (Gram-)
03	Hektoen	Coques violets (Gram+)
04	Hektoen	Bacilles roses (Gram-)
07	Hektoen	Coques violets (Gram+)
07	Chapman	Coques violets (Gram+)
09	GN	Coques roses (Gram-)
09	Chapman	Bacilles violets (Gram+)
12	Chapman	Coques violets (Gram+)
13	Chapman	Coques violets (Gram+)
14	Chapman	Coques violets (Gram+)
14	GN	Bacilles et coques violets
		(Gram+)
17	Chapman	Coques violets (Gram+)
18	Mac Conkey	Bacilles roses (Gram-)
19	Chapman	Coques violets (Gram+)
20	Chapman	Coques violets (Gram+)



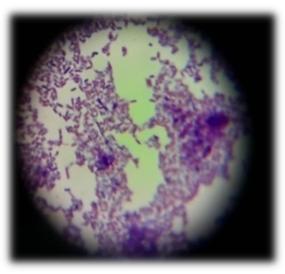


Figure N°11 : Bactérie Gram+

Figure N°12: Bactérie Gram-

III.4. Résultats de l'examen bactériologique

Tous les résultats d'examen bactériologique sont représentés dans (Tab.12, 13,14 et15)

III.4.1. Résultats d'identification biochimique d'Api 20E et Api 20NE

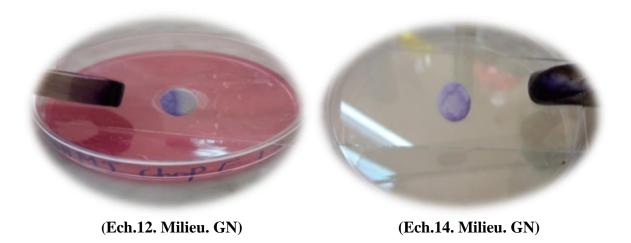
D'après la réalisation des tests classiques dans le but de la recherche de certains caractères des bactéries isolées comme indiqué dans (**Tab.12**) certains tests ont pour rôle d'identifier les bactéries de Gram négatif des bactéries à Gram positif comme: oxydase, catalase; par contre les autres tests sont dont le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux Entérobactéries et souvent facilité par la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'orthinine décarboxylase (ODC) et de l'arginine di hydrolase(ADH).

Tableau N°12: Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés

Echantillon	Test Milieu	oxydase	catalase	ODC	LDC	ADH	ONPG	Citrate de Simmons	TSI	MM
12	Chapman							+	-	+
	GN							+	-	+
13	Chapman	+	+	+	+	-	+	-	-	
14	Chapman							-	-	+
	GN	+	+	+	+	+	+		-	-
17	Chapman							-	-	+
	Chapman							-	-	+
18	Mac Conkey	1	1	1	-	•	+	+	1	+
19	Chapman							1	•	+
	Chapman	-	-	+	-	-	-	-	-	+
20	Mac Conkey	1	1	•	-	•	+	+	1	+

- (+) Résultat positif.
- (-) Résultat négatif.

Oxydase positif (+)



➤ Catalase positif (+)



(Ech.13.Milieu.Chapman)

Figure N°13: Résultats des Tests biochimiques

III.4.2. Résultats de l'antibiogramme

L'étude de la sensibilité de différentes souches isolées (17-19) dans des milieux de cultures différents (Chapman et Hektoen) a montré d'excellents résultats (Tab.13) par rapport à l'activité de la plupart d'antibiotiques utilisés, Nos résultats ont montré que les souches de milieux de Chapman de deux prélèvements (17-19) sont sensibles à la Lincomycin, Ciprofloxacin et la Gentamycine avec un faible diamètre, par contre elles sont très résistantes aux autres antibiotiques.

Nos résultats montrent que les souches isolées de milieux de Chapman et Hektoen sont des souches résistantes ayant un caractère dit sauvage .Elles développent une résistance vis-àvis un grand nombre d'antibiotiques.

Tableau N°13 : Résultats de l'antibiogramme des échantillons choisis

Antibiotique Entantillon Et Milieu	12 Chapman	13 Chapman	14 GN	17 Chapman	18 Mac Conkey	19 Chapman	20 Mac Conkey
Gentamicin	R (/)		R(20)	R(/)		R(15)	
Rifampin	S (35)		R(/)		R(9)		R(/)
Cephalexin	R (/)		R(/)				R(/)
Doxycyline	R(15)		S(33)		R(/)		R(/)
Ciprofloxacin	S(30)		R(20)	S(25)		S(30)	
Erythromycin		S(25)			R(/)	R(/)	R(/)
Oxaciline		R(15)				R(12)	
Amoxycilin		R(16)				R(/)	
Cephalexin		R(15)			R(/)		
Ampiciline		R(/)			R(/)		R(/)
Lincomycin				S(29)			
Polymixin				R(/)			
Céfalotine				R(14)			

R: Résistant S: Sensible (/): Le diamètre d'inhibition = 0.00 DMI en (mm)



(Ech.12-Milieu. Chapman)



(Ech.14-Milieu. Chapman)



(Ech.17-Milieu. Chapman)



(Ech.19-Milieu. Chapman)

Figure N°14: Résultats de l'antibiogramme des échantillons sensibles aux antibiotiques choisis

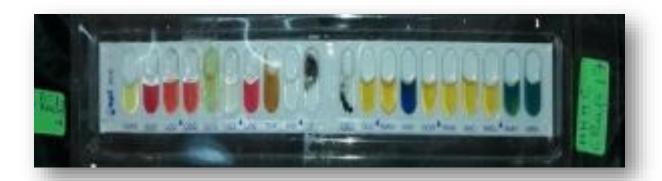
III.4.3.Résultats d'API

Apres l'utilisation de la méthode d'API web pour identifier les bactéries nous avons trouvé les germes repartis dans **l'annexe N°06**; Nous avons remarqué la présence des bactéries connues dans les infections vaginales comme *Escherichia coli*; aussi la présence des autres bactéries moins connues dans les infections vaginales en citant: *Klebseilla sp*; *Pasteurella sp*; Ces germes doit être mises parallèlement avec les signes cliniques des patientes en cas de recherche d'infection.

Tous nos résultats du Systèmes d'identifications microbiennes commerciales d'Api 20E et Api 20 NE sont représentés dans les deux tableaux (**Tab.14-Tab.15**) :

Tableau N°14 : Résultats des galeries 20E des échantillons étudiés

ET	N°17 Milieux : Chapman	N°19 Milieux : Chapman	N°20 Milieux : Chapman	N°20 Milieux : Mac Conkey
ONPG	+	+	+	+
ADH	+	+	+	-
LDC	+	-	+	+
ODC	+	-	+	+
CIT	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-
URE	+	-	-	-
TDA	-	-	1	-
IND	-	-	-	-
VP	-	-	1	-
GEL	-	-	+	-
GLU	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+
INO	-	-	+	+
SOR	+	+	+	+
RHA	+	-	+	+
SAC	-	+	+	+
MEL	-	+	1	-
AMY	-	+	+	-
ARA	-	-	+	+
OX	/	/	1	+
CODE	7114130	3004561	7106733	5104732



(Ech.17-Milieu.Chapman)



(Ech.19-Milieu.Chapman)



(Ech.20-Milieu.Chapman)



(Ech.20-Milieu. Mac-Conkey)

Figure N°15 : Résultats d'API 20 E des échantillons : 17, 19 et 20.

Tableau N^{\circ}15 : Résultats des galeries 20NE des échantillons

E	N°18	N°18
	Milieux:	Milieux : Mac Conkey
T	Chapman	
NO3	+	+
TRP	-	-
GLU	+	-
ADH	+	+
URE	+	+
ESC	-	-
GEL	+	+
PNG	+	+
GLU	-	-
ARA	+	+
MNE	-	-
MAN	-	-
NAG	-	-
MAL	-	-
GNT	-	-
CAP	-	-
ADI	-	-
MLT	-	-
CIT	-	-
PAC	-	-
OX	/	+
CODE	5331000	1331000



(Ech.18-Milieu.Chapman)



(Ech.18-Milieu. Mac-Conkey)

Figure N°16 : Résultats d'API 20 NE d'échantillon 18

Discussion générale

Le diagnostic cytobactériologique nous a permis d'identifier et d'impliquer plusieurs germes à partir de 20 prélèvements. 90% des résultats ont positifs dont le germe le plus rencontré est *Candida Sp* avec 50%, *Staphylococcus sp* occupe la deuxième place avec 35% et une présence des entérobactéries dans 15% des échantillons (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*).

En comparent nos résultats à d'autres recherches nous avons trouvé que la distribution des germes identifiés dans nos prélèvements est similaire par rapport à **Tchelougou et al**, (2013) qui sont comme suite: *G. vaginalis* et *Candida Sp* sont des agents infectieux représentent plus de 80 % des germes identifiés suivi de *T. vaginalis*, *Mobiluncus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Yersinia enterolytica* et *Enterobactercloacae* qui ont compté pour moins de 20 %.

Jamili (2010), a trouvé dans l'étude de la prévalence prospective des candidoses vulvovaginales chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction MOHAMED V de Rabat que 26 % montrant des levures et/ou des pseudo filamments, alors que la culture est positive de 23 % et les espèces les plus fréquemment isolées sont *Candida albicans* (69%) suivi de *Candida glabrata* et *Candida tropicalis* à fréquence égale 15,5%.

Les facteurs de risque impliqués dans la survenue d'une candidose vulvo-vaginale sont : la grossesse, les mauvaises habitudes hygiéno-vestimentaires par le port des sous-vêtements synthétiques et la toilette intime fréquente.

Par contre l'antibiothérapie, la contraception orale et mécanique, le cancer ne semblaient pas être des facteurs favorisants.

Des recommandations pour la prise en charge de la candidose vulvo-vaginale sont instaurées afin d'éviter les récidives. Elles comprennent un traitement local et/ou général, selon la situation qui se présente, ainsi que l'amélioration des règles hygiéno-vestimentaires, associée à une hygiène sexuelle.

Selon Nekkache et al., (2015) la candidose vulvo-vaginale est principalement causée par *C. albicans* (58%); ensuite *C. dubliniensis*, *C. glabrata* et *C. lusitaniae* à fréquence égale (14%).

El Alami et al., (2011) ont rapporté que les espèces des levures les plus fréquemment Isolées sont *Candida albicans* (69,2 %) suivi de *C. glabrata* et *C. tropicalis* à fréquence égale

(15,5 %). Ceci a été confirmé par *Anane* et al., (2010) qui ont isolé sur 515 cas positif *C. albicans*.

L'incidence de *Candida albicans* dans la candidose vulvo-vaginale (CVV) était largement rapportée et discutée; Il semble que le facteur favorisant sa survenue est principalement la grossesse.

Cette incidence importante de la CVV durant la grossesse est due à l'augmentation des taux des hormones de reproduction, notamment les œstrogènes, qui fournissent une excellente source de carbone pour la croissance du *Candida Sp* (Anane et *al.*, 2010).

Certaines études rapportent que l'utilisation des antibiotiques favorise la survenue d'une CVV. En effet, la prise de ces médicaments perturbe la flore vaginale normale en diminuant les lactobacilles, ce qui favoris e la colonisation par les levures du genre *Candida* (Anane et *al.*, 2010).

Plusieurs travaux ont montré que l'utilisation des contraceptifs oraux ostrogéniques augmente la fréquence de la CVV. Cela est expliqué par l'augmentation de la croissance et de l'adhésion du *Candida* à l'épithélium vaginal provoquée par l'æstrogène (Anane et *al.*, 2010).

Selon **Anane et al.**, (2010), pour les pilules fortement dosées, le risque de la CVV est beaucoup plus important et les femmes portant des vêtements serrés sont plus susceptibles à développer une CVV et ainsi l'élévation de la chaleur et de l'humidité du vagin contribuerait à la croissance des levures.

Enfin en revenant à nos résultats, dans tous les prélèvements effectués on a trouvé que 10% des patientes qui ne présentent aucun agent pathogène dans leurs pertes vaginales.

Ainsi l'effectif de 90% patientes représente des agents pathogènes dans leurs PV, ce là est un indice qui nous permet de confirmer que tout femme enceinte est exposée aux infections Vaginales ; Il faut donc dépister et si possible éliminer les causes favorisantes.

Conclusion

La grossesse représente un facteur de risque important de déséquilibre de la flore vaginale. Compte tenu des changements hormonaux de la diminution des défenses immunitaire, il est plus facile de contracter ou de développer une infection vaginale, il est impératif de consulter un gynécologue lorsque les pertes de flux sont importantes, changement de couleur ou sont malodorantes.

Ce genre de problématique peut être très dangereux pour la mère et le bébé puisqu'ils peuvent provoquer un accouchement prématuré ou de graves problèmes de santé chez le bébé.

Les données précédentes nous ont poussées à la présente étude évaluée « Les infections vaginales chez les femmes enceintes avant l'accouchement dans la maternité de « Aourai Zohra-Tiaret »

Notre problématique de recherche était axée sur trois questions à l'occurrence :

- Quel est l'impact des Infections Vaginales sur la santé des femmes enceintes ?
- Quelles sont les principales causes ?
- Quelles sont les moyens de lutte contre ses Infections ?

Eu égard à ce qui précède, nous avons constaté que les infections vaginales existent chez les femmes enceintes soit symptomatique ou pas et que ces femmes sont inconscientes aux risques de ces infections.

Au cours de notre travail, on a remarqué qu'aucun effort ni sensibilisation n'est fourni pour éviter ces infections ou limiter leurs dégâts.

Cependant il faut mentionner que nos résultats confirment qu'aucun traitement antimicrobien n'a été pris par les patientes et que tous les signes indiquaient l'atteinte par une infection vaginale dont on a eu un taux élevé de résultats positifs de 90%.

Enfin la prévention et les contrôles réguliers restent donc, les meilleurs moyens de lutte contre les infections vaginales surtout s'ils sont soutenus par des compagnes de sensibilisation.

Pour une meilleure prise en charge des systèmes vaginales il faut :

- 1. Isolement et identification des germes responsables des infections vaginales chez les femmes enceintes dans les différents stades de la grossesse.
- 2. Etude épidémiologique des infections nosocomiales des maternités au niveau national.

Références bibliographiques

- ❖ ALAIN B., CORINNE A., MICHEL R. (2000). Maladies infectieuses courantes à transmission materno-fœtale. Ed. Doin, Paris, pp219-220.
- ❖ ANANE S., KALLEL K., KAOUECH E., BELHAJ S et CHAKER E. (2007). Candida dubliniensis: une nouvelle espèce émergente. Ann Biol Clin.: 65(1):9-13.
- * ANANE S., KAOUECH E., ZOUARI B., BELHAJ S., KALLEL K et E CHAKER H. (2010). Les candidoses vulvo-vaginales : facteurs de risque et particularités cliniques et mycologiques. Journal de mycologie médicale : 20 :36-41
- ❖ AOAC, (2002). Official Methods of Analysis.17^{eme} Ed. Gaithersburg, USA.pp25-42.
- ❖ API :http://apiweb.biomerieux.cpm/sevlet/Authenticité?action=preparelogin.
- ❖ BERREBI A, AYOUBI J.M, (1999) Le déséquilibre de la flore vaginale, Genesis, 44:1-4.
- ❖ BONALA E. (2014). Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/ enfant, traitement et conseils. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard de Faculté de pharmacie, Lyon, p24.
- ❖ CARDINALE V. (2001). Les candidoses vaginales récidivantes à *Candida albicans*. Thèse de doctorat, Université Henri poincare. Nancy, pp17-18.
- CNGOF, (2010). Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, nationale des Item 88 : Infections génitales de la femme Leucorrhées. p03.
- ❖ DELCROIX M., CHERONT C., (1994) Les infections vaginales. Infections gynécologiques. Ed. Masson .France, pp164-179
- ❖ **DELLARAS C.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Ed. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. pp33-65- 101-129.
- ❖ DEVELOUX M, BRETANE S., (2005) Candidoses et levuroses diverses. EMC-Maladies Infectieuses. Paris ; 02 : 119-139
- ❖ El ALAMI S., HANDOR N., MOUTAKI ALLAH Y., NAOUI H., BOUCHRIK M., BOULAHYA A et LMIMOUNI B. (2011), La candidose vulvo-vaginale, Service de parasitologie et mycologie médicale, Hôpital militaire d'instruction .Mohammed-V, Maroc. p108.
- ❖ JAMILI H. (2010). La candidose vulvo-vaginale chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat : Etude prospective 2009-2010. Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat.p63.

- ❖ J. LANSAC, (2006). Collège National Des Gynécologues et Obstréciens Français, Extrait des Mises à jour en Gynécologie et obstétrique − Tome XXX, p6-7.
- ❖ JULIE VAN S., VANCOUVER M., MARK H., YUDIN M., TORONTO O. (2015). Vulvovaginite : Dépistage et prise en charge de la trichomonas, de la candidose vulvovaginite et de la vaginose bactérienne. Directive clinique de la sogc, Columbia ; 320 : 3-7.
- ❖ **KEIT A.** (2009). Etude épidémiologique et clinique de la vaginose au centre Hospitalier universitaire du point G. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali, p22.
- ❖ LARPENT, J.P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2^{éme} Ed. Masson, Paris, p512.
- ❖ LEPARGENEUR JP, ROUSSEAU V. (2002). Protective role of the Doderlein flora. J Gynecol Obstet Biol Reprod: 4:85-94.
- ❖ LEVESQUE S. (2011). Soin préventifs et de santé .Institut national de santé publique, Québec, p19.
- LUNARDO M.C., MUZARD G., GUERIN V., DELANCE V., (1999) Caractéristiques pharmacocinétiques d'un nouvel antifongique imidazolé : le nitrate de sertaconazole. Jour. Mycol. Med. : 09 :137-142.
- ❖ MARCHAL, L., Bourdon, J.L., Richard, C. (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. Paris, p482.
- ❖ MIKE BOIVIN B (2010). Les infections vaginales .Rapport de recherche. Le programme national de formation continue des assistants techniques en pharmacie. Canada, p26.
- * NGABA G., ESSOMBA E., KEDY KOUM C., NDZENGUE L., BIKA C., ADIOGO
- **D.** (2014). Profil des germes impliqués dans les infections cervico-vaginales chez la femme en âge de procréer à l'hôpital de district de Bonassama. Médecine et pharmacie : 4 :1-3.
- ❖ NEKKACHA S, ACHOURI S, REGUIG F. (2015). Les Mycoses. Mémoire de master en génétique publiée, Université des Frères Mentouri, Constantine. pp16-32.
- ❖ ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. (2005). Les infections sexuellement transmissible et autres infections de l'appareil reproducteur. Ed. Département de la santé et de la recherche génétique, Canada, pp43-46.
- ❖ PRUDHOMME C., JEANMOUGIN C., BASTIAN D. (2007). Gynécologie obstétrique. Ed. Maloine, Paris, p07.
- ❖ RICHARD BONNET, (2014) Service Bactériologie. Centre National Antibiogramme /CMI: techniques phénotypiques irremplaçables. Geophylogénie des K. pneumoniae oxa-48 in France in 2014. Detection of antibiotic resistance genes by WGS.p187

- * RONALD AR, ALFA MJ. (1996). Medical Microbiology; Microbiology of the
- Genitourinary System. Ed n° 4, p. 97
- **RUBIN M. (1993).** Les maladies sexuellement transmissibles. Ed. Albin Michel.S.A, Paris, pp. 24-127.
- ❖ SAIZOUNOU J., OUEDRAGO L., PARAISO M., AYELO P., KPZEHOUEN A., DARATE R., TRAORE E. (2014). Epidémiologie per partumala maternité du centre hospitalier département de l'Oueme-plateau au bénin. The pan African médical Journal, Bénin, p2.
- ❖ TCHELOUGOU D. (2012). Contribution à l'amélioration de la santé maternelle et néonatale au Togo : Cas des infections vaginales chez les femmes enceintes venues consulté au CHR de Sokode. Mémoire d'ingéniorat, Ecole supérieure des techniques biologiques et alimentaire, Togo, pp. 9-11.
- **❖ TCHELOUGOU D., KAROU D., KPOSTRA A., ASSIH M., BANOKEKATAWA G., ANANIK., SIMPORE J., DESOUZA C. (2013).** Infections vaginales chez les femmes enceintes au centre hospitalier régional de Sokodé (Togo) entre 2010et 2011.Ed N°.Médecine et Santé Tropicale. 23(1):51-52.
- ❖ VAN ROYEN P., FOULON V., TENCY I., VANDEVORDE J. (2016). Problèmes vulvo-vaginaux chez les femmes attentes de vulvovaginites et de vaginose dans la phase de vie reproductive. Rapport de recherche. Ed. EBM Pratice Net. Belgique, p9.
- ❖ VAUBOURDOLLE M. (2013). Infectiologie. Ed. Wolters Kluwer SA, Italie, pp. 367-368.
- ❖ VAZQUEZ JA, SOBEL JD. (2002). Mucosal candidiasis. Infect Dis Clin North Am; 16:793-820.
- ♦ https://microbiologiemedicale.fr; anatomie de l'appareil génital féminin consulte le 20 avril 2017à 10h.

Annexe $N^{\circ}01$: Composition des milieux de cultures (g/l) selon Larpent (1990)

➤ Gélose nutritive

	Extrait de levure	
	Extrait de viande01	
	Peptone	
	Nacl05	
	Agar15	
>	Bouillon nutritif	
	Peptone pancréatique d'organe10	
	Extrait de viande10	
	Chlorure de sodium05	
	Agar20	
>	Chapman	
	Peptone	
	Extrait de vaiande01	
	Na cl75	
	Mannitol10	
	Rouge de phénol	5
	Agar	
>	Hektoen	
	Peptone12	
	Extrait de levure03	
	Nacl	
	Sels biliaires	
	Thiosulfate de sodium05	
	Citrate de fer ammonical	
	Lactose12	
	Salicine02	
	Saccharose	
	Fuchsine0.1	
	Agar14	

Annexes

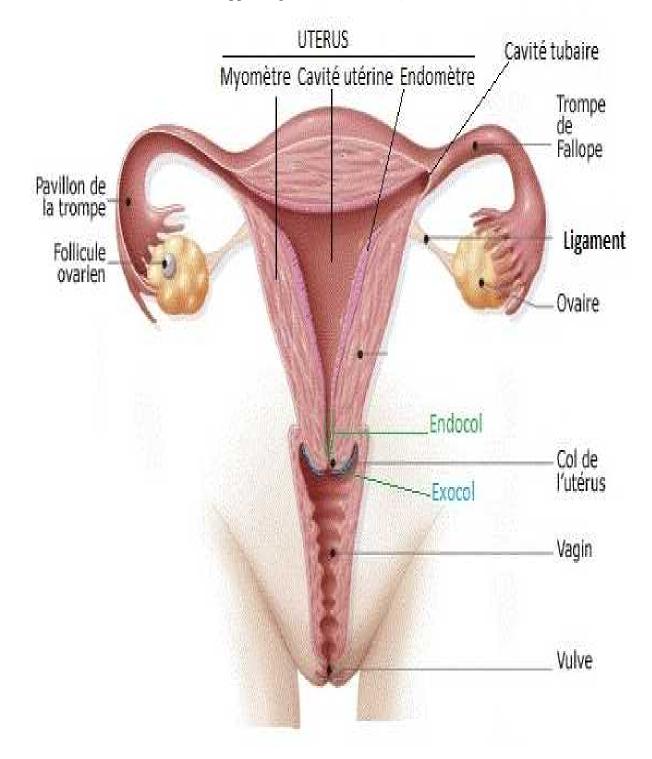
	Muller Hinton
	Infusion de viande de bœuf300
	Peptone de caséine17.5
	Amidon de mais1.5
	Agar17
>	TSI
	Tryptone14
	Extrait autolytique de levure03
	Extrait de viande03
	Glucose01
	Lactose10
	Saccharose10
	Chlorure de sodium05
	Thiosulfate de sodium0.3
	Citrate ferrique ammoniacal0.3
	Rouge de phénol24
	Agar13.5
>	Mannitol mobilité
	Hydrolysattrypsique de caséine10
	Mannitol7.5
	Rouge de phénol0.4
	Nitrate de potassium01
	Agar3.5
	> Sabouraud
	Peptone pepsique de viande10
	Peptone enzymatique de caséine10
	Glucose:35
	Agar agar15.
	pH du milieu prêt à l'emploi à 25° C : 5.7 ± 0.2 (Biokar) et 5.6 ± 0.2 (Difco)

Annexes

> SS

Extrait de viande de boeuf	5
Polypeptone	5
Sels biliaires	8,5
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate ferrique	1
Citrate de sodium	10
Lactose	10
Vert brillant	0,00033
Rouge neutre	0,025
Agar	13,5
pH final $= 7.0$	

Annexe $N^{\circ}02$: Anatomie de l'appareil génital féminin(http://microbiologiemedicale.fr)



FigureN°:17

Annexe N°03: Résultat d'examen cyto-bactériologique des prélèvements vaginales du 21^{ème}prélèvement effectué au laboratoire d'analyses médicales de Dr A. BOUZIANE.



Tiaret, le 05 mars 2018

Nom : ELGUENDOUZI

Prénom: RAMLIA : 25 an(s) Age

Date prélèvement :

28/02/2018 09:19

Analyses demandées par :

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES LEUCORRHEES

Valeurs usuelles Anterioritées Examen Cytologique après coloration : (GRAM) - Cellules epitheliales Nombreux - Polynucleaires - Hematies - Trichomonas vaginalis - Levures Absence - Clue Cells (cellules indicatrices) - Flore de DODERLEIN (Lactobacilles) Peu abondante 2 - Type de flore : Type 1 : Predominance de lactobacilles. Type 2 : Lactobacilles presents mais flore de substitution sans morphologie predominante Type 3: Lactobacilles rares avec un type morphologique predominant. Type 4 : Flore totalement substituée. Examen Bactériologique : - Culture après enrichissement sur milieu BGT : **Positive** Négative - Culture sur milieu Sabouraud : Bacille Gram Négatif - Recherche de germes : Conclusion : Après identification biochimique et chromogénique le germe identifié est une Enterobacterie Espèce Escherichia coli 1 DR A BOUZIANE Medecin Biologiste Diplômé de la Faquité de Médecine Paris V Agrément Ministériel n° : 78 Tél/Fax 046 222 424 Adresse : Cité Mohamed Djahlane (AVENIR) Tiaret - Tél/Fax : 046.22.24.24

Email: labo.bouziane @yahoo.fr

Annexe N°04 : Résultat de l'antibiogramme des PV du 21^{ème} prélèvement effectué au laboratoire d'analyses médicales de Dr A. BOUZIANE



Laboratoire d'Analyses Médicales

Dr A. BOUZIANE Médecin Biologiste Diplômé de la Faculté de PARIS V Agrément Ministériel N° 78

Tiaret, le 05 mars 2018

Anterioritées

Nom : ELGUENDOUZI

Prénom: RAMLIA : 25 an(s)

28/02/2018 09:19 Date prélèvement :

Valeurs usuelles

ANTIBIOGRAMME

Entérobacteries

Amoxilline + Ac Clavulanique AUGMENTIN

Ampicilline

Amikacine

Cefalexine Cefazoline Cefexime Cefotaxime Imigénème Gentamycine

Analyses demandées par :

Sulfamethoxazol + Trimethoprime (Bactrim)

Colistine Ofloxacine Nitroxoline (Nibial) Chloramphenicol Ceftazidime Ticarcilline Tobramycine

Piperacilline Pefloxacine Ac nalidixique Sulfamethoxazol Sensible

Intermédiaire Sensible Sensible Sensible Sensible Sensible

Sensible

Intermédiaire

Sensible Sensible Sensible intermédiaire

Sensible

Sensible Sensible Sensible Sensible

> DR.A.BOUZIANE Médecin Biologiste Diplômé de la Faculté de Médecine Paris V Agrément Ministériel nº : 78 Tél/Fax 046 222 424

Adresse : Cité Mohamed Djahlane (AVENIR) Tiaret - Tél/Fax : 046.22.24.24 Email: labo.bouziane @yahoo.fr

Annexe $N^{\circ}05$: Distribution des germes et taux d'infections

Tableau N°16: Distribution des germes et des taux d'infection en fonction de l'âge, du stade évolutif de la grossesse et du nombre d'enfants (**Tchelougou et** *al.*, **2013**)

		A	.ge			Terme de la grossesse			Nombre d'enfants				
	15 à 20	20 à 30	30 à 40	40 à 44	р	1 ^{er} Trim	2 ^{éme} Trim	3 ^{éme} Trim	P	Nulli	Primi	Multi	р
Nombre de patientes	16	171	72	6		88	107	74		113	68	92	
G. vaginalis	62,50	57,89	52,78	50,00	0,83	53,41	57,00	56,76	0,86	58,41	55,88	51,08	0,57
Candida sp	25,00	29,24	38,89	33,33	0,46	31,82	28,97	31,08	0,90	30,97	33,82	28,26	0,75
S. aureus	_	5,26	1,39	16,67	_	5,68	7,48	2,70	0,38	4,43	2,94	8,70	0,23
T. vaginalis	12,50	4,09		_	_	4,55	3,74	2,70	0,82	3,54	4,41	3,26	0,92
Entérobactéries	-	4,09	6,94	-	_	3,41	2,80	6,76	0,38	2,65	2,94	7,61	0,18
Mobiluncusspp	-	0,58	-	-	_	1,14	-	_	-	-	-	1,09	-
Taux d'infection	70,59	75,44	70,83	80,00	0,78	73,08	75,22	70,73	0,79	73,98	72,15	73,00	0,93
Taux de Co-infection	33,33	22,22	20,83	25,00	0,74	14,47	25,88	29,31	0,05	24,17	19,30	24,66	0,65

> Trim: trimestre

> Nulli: nullipare, Primi: primipare, Multi: multipare

➤ (-): non détecté

Tableau N°17 : Distribution des germes identifiés dans les prélèvements vaginales des femmes enceintes au CHR de Sokodé (**Tchelougou et** *al.*, **2013**)

Germes	Effectif	Pourcentage (%)
Gardnerellavaginalis	151	55,31
Candida sp	84	30,77
Staphylococcus aureus	15	5,49
Trichomonas vaginalis	10	3,66
Entérobactéries	12	4,40
Totale	273	100

Annexe $N^{\circ}06$: Interprétation des Résultats d'API

Tableau N°18 : Interprétation des résultats des galeries API 20E

Code de la bactérie	Taxons Significatif(s)	ID	T	Test(s) à l'encontre				
bacterie								
				ADH 1	URE 3	IND 89	SOR 91	
7114130	Ecoli 1			MEL 75	ARA 99	/	/	
	E coli 2			ADH 1	ODC 20	URE 1	SAC3	
	Afniaalvei 2			ADH 0	URE 1	RHA 1	SAC 1	
	Taxons Significatif(s)	ID	Т	Test(s)à l'encontre				
	Klebseillapneumonaesppozaenae	70.1	0.63	ADH 18	SAC 20	ARA 85	/	
		72.1		MEL 75	ARA 99	/	/	
	Pantoeaspp1	26.7	0.49	ADH 1	/	/	/	
13004561	Enterobactercloacae	0.6	0.15	ODC 92	CIT 90	VP 85	RHA 85	
	Test complementaire (s)	MOB	ADONOTOLAC	JAUNE	MD Gac			
	Klebseillapneumonaesppozaenae	0	97	0	70	/	/	
	Pantoea spp1	85	7	76	7			
	Erwiniaspp	85	-(+)	-(+)	-(+)	-(+)	-+)	
7106733	Taxons Significatif(s)	ID	Т	Test(s)a l'encontre				
	Serratialiquefaciens	98.8	0.21	ADH 1	CIT 80	RHA 2	/	
				MEL 75	ARA 99	/	/	
7106733	Serratiaodorifera 1	0.5	90	ADH 0	CIT 95	IND 99	MEL 99	
	Taxons Significatif(s)	ID	T	Test(s)a l'encontre				
5104732	E. coli 1	50.1	0.41	IND 89	INO 1	MEL 75	/	
	Serratiafonticola	28.2	0.29	CIT 75	MEL 99	AMY 99	/	
	Enterobacteraerogenes	14.1	0.2	CIT 82	VP 85	MEL 99	AM Y 99	
	Serratialiquefaciens	5.2	0.26	CIT 80	RHA 2	AMY 97	/	
	Klebseillaterrigena	0.9	0.05	ODC 6	VP 75	MEL 100	AM Y 100	
	Test complementaire (s)	ADONI TLac	CELac	MDGac	DNASa	/	/	
	Enterobacteraerogenes	98	100	94	0	/	/	
	E coli	4	2	0	0	/	/	
	Serratiaodorifera 1	100	6	91	0	/	/	
	Serratialiquefaciens	6	6	6	85	/	/	

Tableau N°19: Interprétation des Résultats des échantillons d'API 20 NE

Code de bactérie	Taxons Significatif(s)	ID	Т	,	Test(s)a l	'encontro	2
	Photobacteriumdamsela			GEL 0	PNPG 11	ARAa 0	OX 100
				MEL 75	ARA 99	ARAa 1	OX 84
5331000	Pasteurillapneumotropica			ADH 0	GEL 0	URE 1	SAC 3
	Pasteurillaspp			GLU 2	ADH 2	URE 1	GEL 1
				PNPG 4	ARAa 1	OX 87	/
	Taxons Significatif(s)	ID	Т		Test(s)a	l'encontre	
	Pasteurillapneumotropica			ADH 0	GEL 0	ARAa 1	OX 84
1331000				MEL 75	ARA 99	/	/
1331000	Pantoea spp1	26.7	0.49	ADH 1	/	/	/
	Enterobactercloacae	0.6	0.15	ODC 92	CIT 90	VP 85	RHA 85
	Test complementaire (s)	MOB	ADONOTOLAC	JAUNE	MD Gac		
	Klebseillapneumonaesppozaenae	0	97	0	70	/	/
	Pantoea spp1	85	7	76	7		
	Chryseobacteriumindologens	/	/	NO3 20	TRP 81	ADH 0	ESC 98
				PNPG 22	ARAa 12	OX 99	/

Annexe N°07: Coloration de Gram

> Technique

La coloration au violet de Gentiane (colorant basique): la lame est plongée pendant 2 à 3

minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les

bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.

Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ;

Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.

Décoloration à l'alcool: verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée

obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la

décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La

coloration au violet de Gentiane disparait. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si

l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine : laisser agir de 30 secondes à 1

minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à

40°C, 10 à 15 minutes. Les bactéries Gram- sont colorées en rose(**Dellaras**, 2007).

Annexe N°08 : Technique d'antibiogramme

1. Préparation de la suspension bactérienne

A l'aide d'une anse de platine stérilisée on prend des colonies isolées de la boite de Pétri qui contient la souche bactérienne et on a les déposé dans des tubes de BN, puis on les incubeà 37°C/18h.

2. Coulage

- Couler le milieu de culture MH (Miller Hinton) dans des boites de Pétri.
- Laisser prendre en masse.

3. Réglage de la concentration

- Couler la gélose dans une boite de Pétri
- Laisser prendre en masse
- On prend un spectrophotomètre et on la règle à une longueur d'onde de 625nm
- On prend deux tubes à essai l'un contient la suspension bactérienne pure et l'autre diluée par le BN
- On remplit la cuve de spectre par la suspension bactérienne diluée pour régler sa concentration qui doit être dans l'intervalle de (0.08-0.13). (si on la trouve supérieure à 0.13 on ajoute le BN propre et si elle est inférieure de 0.08 on ajoute la suspension bactérienne) jusqu'à l'obtention d'une bonne concentration.

4. Ensemencement

- Prélever 2 ou 3 gouttes de la suspension bactrienne de concentration réglé, les déposer à la surface de la gélose et les étaler avec un râteau.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée (10 à 15mn).
- déposer les disques de celluloses imprégnées d'antibiotique (Céfalotine, Rifampin, Gentamicin, Ampicilin, Erythromycine, Doxyciline, Polymixin, Oxaciline, Amoxycilin, Erythromycilin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Lincomicin, Cephalexin) correspondant à l'aide des distributeurs ou à la pince en appuyant légèrement.
- Placer la boite de Pétri à basse température +4°C pendant 15 à 30mn afin de permettre aux antibiotiques de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier.

5. Incubation

• Retirer les boites du réfrigérateur et les placer dans l'incubateur, à la température optimale de la croissance du germe à étudier (37°C/24) (**Dellaras,2007**).

Annexe N°09: Technique d'identification microbienne commerciale API

1. Inoculation de la bande API:

Inoculer la suspension bactérienne dans chacun des puits avec une micro pipette Remplir le tube et la section de la cupule des tubes [CIT], [VP] et [GEL]. Remplir complètement la section de la cupule du micro tubes ADH, LDC, ODC, H_2S et

2. Incubation de la bande API dans sa chambre

URE avec de l'huile de paraffine.

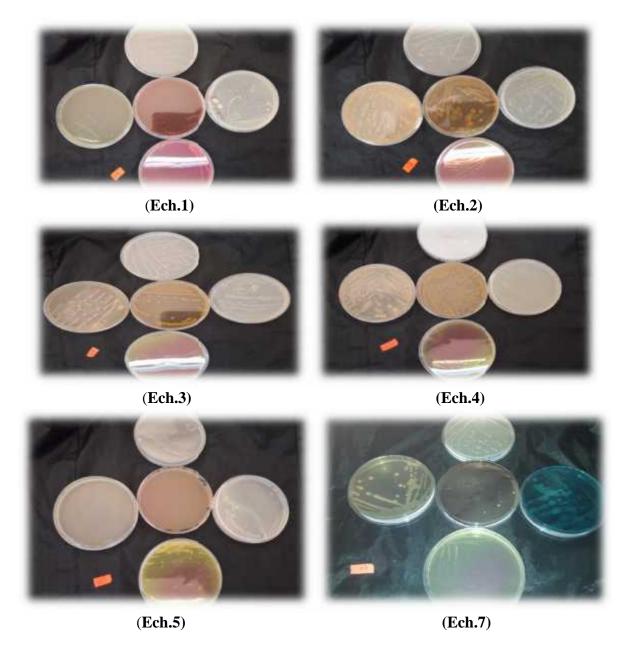
Remplir le bas de la chambre avec juste assez d'eau distillée pour remplir les indentations.

Placer la bande dans ce réservoir du bas.

Placer le dessus de la chambre d'incubation sur le bas et en la étiquetée et la déposer dans

l'incubateur dans une température de 37°C/24h (Marchal et al., 1982)

Annexe N°10 : Résultats d'ensemencement des échantillons sur les milieux de culture



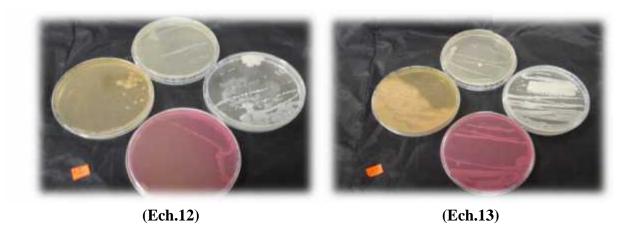
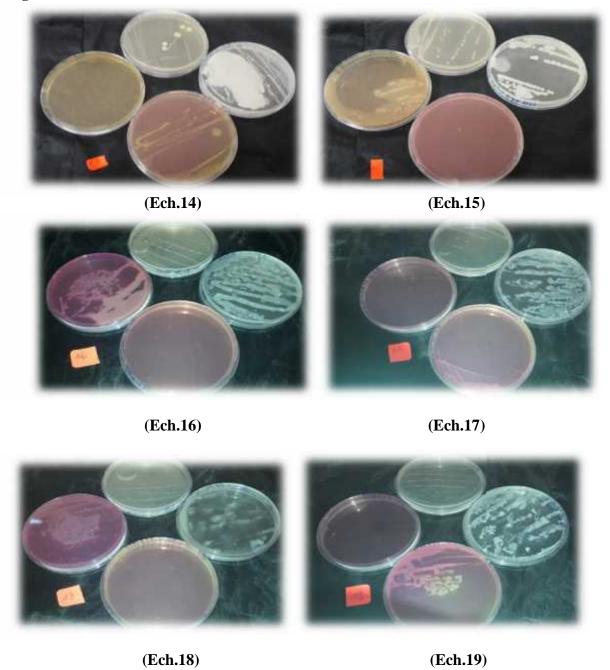


Figure N°18: Résultats d'ensemencement des échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12 et 13



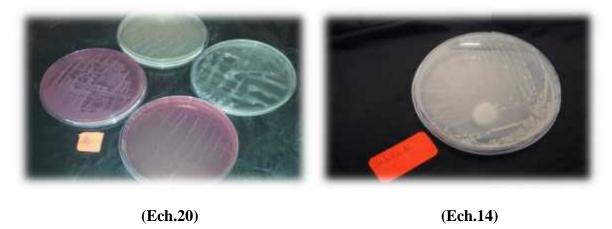
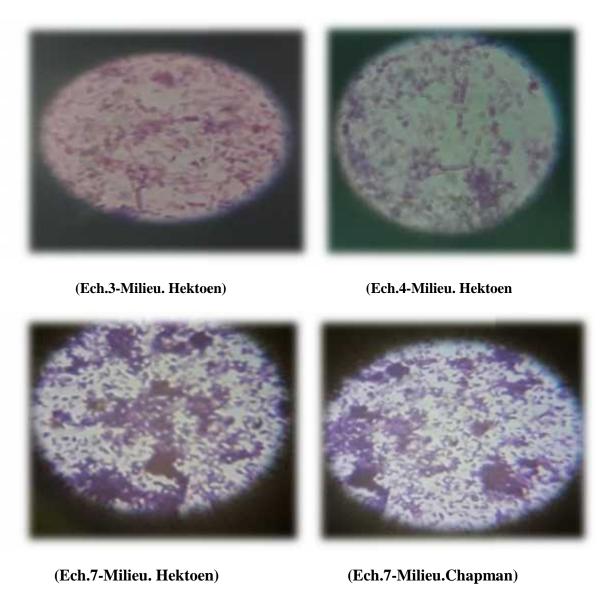
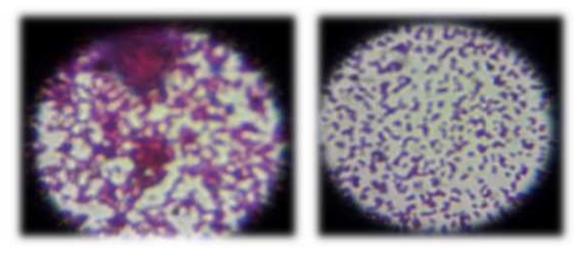


Figure N°19: Résultats d'ensemencement des échantillons : 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20

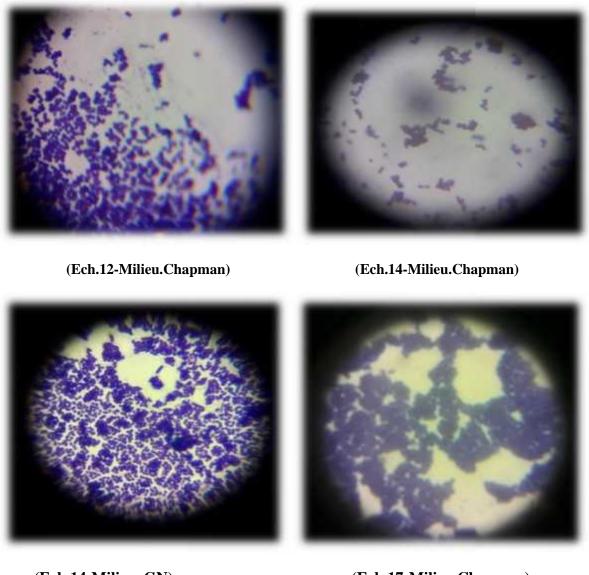
Annexe N°11: Résultats de la coloration de Gram



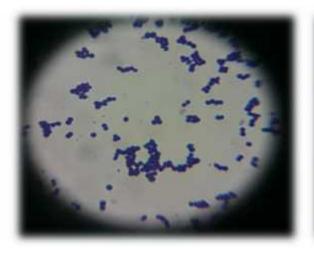


(Ech.9-Milieu. GN) (Ech.9-Milieu. Chapman)

Figure N°20: Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 3, 4, 7 et 9



(Ech.14-Milieu. GN) (Ech.17-Milieu.Chapman)





(Ech.19-Milieu.Chapman)

(Ech.20-Milieu.Chapman)

Figure N°21 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 12, 14, 17, 19 et20

Annexe N°12: Résultats des tests biochimiques







(Ech.12-Milieu. Chapman)

(Ech.12-Milieu. GN)

(Ech.13-Milieu. Chapman)







(Ech.14-Milieu. Chapman)(Ech.14-Milieu. GN)

(Ech.17-Milieu. Chapman)

	Nombre d'accouchement			
Mois	Février Mars		ars	
Voie d'accouchement	Basse Haute Bass		Basse	Haute
Accouchées	438	300	447	374



(Ech.18-Milieu. Mac Conkey) (Ech.19-Milieu. Chapman) (Ech.19-Milieu. Chapman)

Figure N°22: Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés

Annexe $N^{\circ}13$: Statistiques des accouchements durant notre période d'étude dans la maternité AOUARAI ZOHRA

Tableau N°20: Statistiques des accouchements dans la maternité AOURAI ZOHRA au mois de Février et Mars

Résumé

Les infections vaginales relèvent d'une altération de l'écosystème vaginal qui est associé à trois principaux types : vulvo-vaginite a *Candida*, vaginose bactérienne, vulvovaginite à *Trichomonas* ; ces dernières peuvent être symptomatiques par la présence d'un écoulement vaginal anormal (Leucorrhée) ou asymptomatiques.

Les infections vaginales peuvent être provoquées par des bactéries, des levures et d'autres microorganismes, elles sont plus fréquentes chez les femmes enceintes à cause de trois principaux facteurs qui sont l'affaiblissement des défenses dans l'organisme, l'augmentation de la taille de l'utérus et de la rétention de liquides.

Au cours de la grossesse, la richesse en glycogène de l'épithélium vaginal s'accroît considérablement. Celà entraîne une augmentation de l'acide lactique et donc par conséquent une augmentation de l'acidité vaginale défavorable à la prolifération de différents agents infectieux.

Le diagnostic cytobactériologique de 20 prélèvements des pertes vaginales avant accouchement des femmes enceintes nous a permis d'identifier et d'impliquer plusieurs germes. 90% des résultats des examens cytobactériologiques étaient positifs et le germe le plus rencontré est *Candida sp* avec 50% suivi de *Staphylococcus sp* avec 35% et présence des entérobactéries dans 15% des échantillons (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*...)

Mots clés

Infection vaginale, Femmes enceintes, Leucorrhées, examen cytobactériologique, *Candida sp, Staphylococcus sp.*

ملخص

تنجم العدوى المهبلية عن تغيير النظام البيئي المهبلي المرتبط بثلاثة أنواع رئيسية، التهاب الفرج المهبلي ب: Candida التهاب الفرج البكتيري، التهاب الفرج المهبلي عن Trichomonas والتي قد تكون ذات أعراض من خلال وجود إفرازات مهبلية غير طبيعية أو بدون أعراض. يرجع سبب العدوى المهبلية لوجود البكتيريا، الخمائر والكائنات الدقيقة الأخرى، وهي أكثر شيوعًا عند النساء الحوامل بسبب ثلاثة عوامل رئيسية: ضعف المناعة في الجسم، زيادة حجم الرحم وزيادة احتباس السوائل.

خلال فترة الحمل، يزيد وجود الغليكوجين للبطانة المهبلية بشكل كبير مما يؤدي إلى زيادة في حامض اللبنيك وبالتالي زيادة في الحموضة المهبلية الغير ملائمة لانتشار العوامل المعدية المختلفة.

سمح التشخيص الخلوي البكتيري: ل20 عينة للإفرازات المهبلية للنساء الحوامل بعزل و تشخيص عدة أنواع من الأحياء المجهرية Candida Sp هي أكثر جرثومة شيوعا بنسبة 50% تليها Staphylococcus sp بنسبة 35% ووجود عائلة البكتيريا المعوية (Escherichia coli, Klebsiellapneumoniae) بنسبة 15%

الكلمات الدالة

عدوى مهبلية، نساء الحوامل، إفرازات مهبلية، الفحص الخلوي البكتيري, Candida Sp, Staphylococcus Sp

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun - Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Infectiologie

Présenté et soutenu publiquement par

- HADJ ARAB Kenza
- HAMANI Amina
- MEKID Fatima Zohra

Thème

Les infections vaginales chez les femmes enceintes dans la maternité « Aourai Zohra» -Tiaret

Jury

Président : Dr. DOUKANI Koula MCA
 Promoteur : Dr. TABAK Souhila MCA
 Examinateur : Dr. MELIANI Samia MCA

Année universitaire: 2017-2018

Remerciements

Après avoir rendu grace à Allah le tout puissant et le misécordieux nous tenons à remercier vivement tous ceux qui de prés ou de loin ont participé à la rédaction de ce mémoire.

Nous sincéres remerciement, plus particuliérement:

A notre Enseignante et encadreur Dr « TABAK Souhila » on a tout l'honneur et le plaisir de travailler avec vous.

Merci madame pour votre aide votre disponibilité, votre patience, et tous vos précieux conseils.

Au membres de jury: Dr. DOUKANI Koula et Dr. MELIANI Samia

Nous vous remercions d'avoir accepter de juger notre mémoire.

AMr «TOUAIBIAMenouar» inspecteur pédagogique de l'institut de paramédical.

Merci monsieur pour votre aide, vos informations et vos explications.

A Mme« BENAISSA Widad » secrétaire de la bibliothéque de paramédical .

Merci pour votre confiance, gentillesse et orientations.

A toute l'équipe de la maternité « AOUARAI Zohra »

Merci pour votre accueil chaleureux.

Au personnel de la maternité surtout Mme« JAOUADI Saadia » et

Mme« SAHRAOUI Fatima Zohra »

Merci mesdammes pour vos aides présences.

A monsieur « BENCHAIIB Khaled »biologiste au laboratoire de Maachi Merci pour votre aide et explications.

Et enfin nous tenons à remercier tout le staff de notre faculté des Sciences de la Nature et de la

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut.

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance.

Aussi, c'est tout simplement que Je dédié ce Mémoire

A mon Dieu le tout puissant.

C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, à lui soit la gloire.

A mes très chers parents Salem HADJ ARAB et Hamama BEN AMER BELKACEM
Ce modeste travail parait bien dérisoire pour traduire une reconnaissance infinie envers
des parents aussi merveilleux. Puisse ce jour être la récompense de tous vos efforts et
prières.

Je vous aime beaucoup.

A mon très cher frère Ghani «Ce que tu as beaucoup peuvent l'avoir mais ce que tu es pour moi personne ne peut l'être».

A mes chers frères: Tayeb, Azzedine, Mourad, Abdou et chères sœurs Nadia, Dalila, Vanina.

Je vous dédie ce modeste travail en témoignage de mon profond amour et mon indéfectible attachement

A mes chères belles sœurs: Lila, Linda, Dihia, Wahida, Dounia Merci pour votre amitié, soutien, conseils, gentillesse. Vous êtes les merveilleuses belles sœurs que j'ai connues. Je vous aime très fort.

A mon chèr Djaffar SI SAID

Merci pour tes sacrifices, ton soutien, ta gentillesse sans égal et ton amour tu es mon cadeau de ciel.

A toute ma famille

L'affection et l'amour que je porte sont sans limites. Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et le respect que j'ai pour vous. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer tout le bonheur et la prospérité.

A toute mes amies: Khadidja, Rima, Soumia, Sara En souvenir d'agréables moments passés ensemble en témoignage de notre amitié.

A tous ceux qui me sont chers et dont je n'ai pas pu citer les noms qu'ils me pardonnent.

HADJ ARAB Kenza

= merci

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mon Dieu le tout puissant

Qui m'a toujours aidé et fortifié dans mon parcours scolaire. C'est à Dieu que je dois ce succès aujourd'hui, Merci de me montrer le chemin.

A mes très chers parents

Merci pour l'éducation que vous avez nous donner et pour tous les efforts pour que nous voyons réussir. Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A mes grands parents.

A mes très chers frères

Abd elillah, Mohamed et Abd elkader

A mes très chères sœurs

Soumia, Zouzou et Marwa

A mon oncle Ahmed

Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A tous mes oncles et tantes

Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A tous mes cousins et cousines

A toutes mes amies: Cherifa, Yasmin et Khadîdja, Fatiha, Ahlem, Aida, Noura En souvenir de ces années que nous avons passées ensembles en faculté.

A tous ceux qui me sont chers. Et dont je n'ai pas pu citer les noms Qu'ils me pardonnent.

HAMANI Amina

Dédicace

Je dédie ce Mémoire

A mon Dieu le tout puissant

A mes très chers parents

A tous mes sœurs et Frères

Ainsi à toute la famille MEKID

A mon fiancé

Pour son encouragement et son soutien et sa présence

A Toutes mes amies

A tous ceux qui me sont chers. Et dont je n'ai pas pu citer les noms.

MEKID Fatima

Sommaire

Liste des Abréviations	i
Liste des Figures	ii
Liste des Tableaux	iii
Liste des Annexes	iv
Introduction	01
Première partie: Partie Bibliographique	
Chapitre I: Les Infections vaginales chez les femmes enceintes	
I.1. Historique	02
I.2. Définition	03
I.3. Types d'infectionsvaginales plus fréquentes au cours de la grossesse	03
I.3.2. Vaginose bactérienne	04
I.3.3. Vulvovaginite à Trichomonas	05
I.4. Symptômes d'infections vaginales	06
I.4.1.Symptômes de la vulvo-vaginite candidosique (infection à champignons)	07
I.4.2. Symptômes de la vaginose bactérienne	07
I.4.3. Symptômes de la vaginite à <i>Trichomonas</i>	07
I.5. Principales causes d'acquisition des infections vaginales en période dela grossesse	08
I.6.Germes plus fréquents responsables des infections vaginales	09
I.6.1. Composition de la flore commensale vaginale saine	09
I.6.2.Germes impliqués dans les infections vaginales chez lesfemmes enceintes	11
I.7. Diagnostic d'une infection vaginale	12
I.7.1. Diagnostic de la vulvovaginite à Candida	13
I.7.2. Diagnostic de la vulvovaginite à Trichomonas	14
I.7.3. Diagnostic de la vaginose bactérienne	14
I.8. Traitement des infections vaginales pendant la grossesse	15
I.8.1. Traitement de la vulvovaginite à Candida	16
I.8.2. Traitement de la vulvovaginte à <i>Trichomonas</i>	16
I.8.3. Traitement de la vaginose Bactérienne	17
I.9.Moyen sdelutte contrelesin fections vaginales	17

Deuxième partie: Partie expérimentale

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1. Objectif	19
II.2. Lieu et durée du travail	19
II.3. Matériel	19
II.3.1. Matériel Biologique	20
II.3.2. Matériel du laboratoire	20
II.3.3 Produits utilisés	21
II.4.Méthodes	21
II.4.1.Protocole expérimental	22
II.4.2.Prélèvements des pertes vaginale (PV)	23
II.4.3.Enrichissement desécouvillons des prélèvements dans des bouillons nutritifs.	23
II.4.4.Ensemencement surmilieux de culture	24
II.4.5.Examen cytologique	24
II.4.5.1. Observation macroscopique	24
II.4.5.2. Observation microscopique à l'état frais	24
II.4.5.3.Observation microscopique après coloration de Gram	25
II.4.6.Examen bactériologique	26
II.4.6.1.Identification Biochimique	26
II.4.6.2. Antibiogramme	30
II.4.6.3. Systèmes d'identification microbienne commerciale (La galerie Api 20E et	Api
20NE	32
Chapitre III: Résultats et discussion	
III.1.Résultats de l'étude macroscopique des souchesisolées	34
III.2.Résultats d'identification biologique des souchesisolées	36
III.3. Résultats de l'examen bactériologique	39
III.3.1.Résultats d'identification des tests biochimiques	41
III.3.2. Résultats de l'antibiogramme	43
III.3.3.Résultats d'API20E et API20NE	44
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Anneyes	55

Liste des abréviations

ADH: Arginine Dihydrolase **PCR**: Polymerase chaine reaction (réaction

en Chaîne par Polymérase, Amplification en chaine

API 20 E : Analytical Profile Index par polymérisation(ACP)).

À l'identification des entérobactéries **PV**: Pertes Vaginales

API 20 NE: Analytical Profile index S.aureus: Staphylococcus aureus

À l'identification des non entérobactéries **Sp**: Espèce

ASPC: Agence de la santé publique **Spp**: Sous espèces

Du Canada SS: Salmonella-Shigella

BN: Bouillon nutritif. **TDA**: Tryptophane Désaminase

C.albicans : Candida albicans TSI : Triple Sugar Iron

CHR: Centre Hospitalier Régional *T.vaginalis*: *Trichomonas vaginalis*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice **VIH :** Virus de l'immunodéficience humaine

E.coli: Escherichia coli

GN: Gélose Nutritive

G.vaginalis: Gardnerella vaginalis

HAS: La Haute Autorité de Santé

IND: Institution Notre-Dame

ITS: Infection Transmise sexuellement

LDC: Lysine Décarboxylase

MM: Mannitol Mobilité

ODC: Ornithine décarboxylase

Liste des figures

Figure N°01 : Schéma du protocole expérimental	22
Figure N°02: Découpage des écouvillons (manipulation)	23
Figure N°03 : Enrichissement des prélèvements vaginales dans le BN	23
Figure N°04 : Dépôt des gouttes de la suspension bactérienne	24
Figure N°05 : Ensemencement des souches isolées.	24
Figure N°06 : Résultats d'enrichissement des échantillons 1, 2, 3, 4 et 5 dans le BN	35
Figure N°07 : Résultats d'enrichissement des échantillons 6, 7, 8, 9 et 10 dans le BN	35
Figure N°08 : Résultats d'enrichissement des échantillons 11, 12, 13, 14 et 15 dans le BN	35
Figure N°09 : Résultats d'enrichissement des échantillons 16, 17, 18, 19 et 20 dans le BN	35
Figure N°10 : Résultats d'ensemencements des échantillons : 6 et 9 dans les milieux de culture incubation	
Figure N°11: Résultat positif de l'échantillon 14 sur le milieu GN	40
Figure N°12 : Résultats négatif de l'échantillon 18 sur le milieu Mac Conkey	40
Figure N°13: Résultats des Tests biochimiques des échantillons	42
Figure N°14: Résultats de l'antibiogramme des échantillons sensibles aux antibiotiques	43
Figure N°15 : Résultats d'API 20 E des échantillons : 17, 19 et 20	45
Figure N°16: Résultats d'API 20 NE d'échantillon 18	46
Figure N°17 : Anatomie d'appareil génital féminin.	58
Figure N°18 : Résultats d'ensemencement des échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 7, 12 et 13	68
Figure N°19 : Résultats d'ensemencement des échantillons : 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20	69
Figure N°20 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 3, 4, 7 et 9	70
Figure N°21 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons : 12, 14, 17, 19 et20	71
Figure N°22 : Résultats des tests biochimiques des échantillons	72

Liste des tableaux

Tableau N°01: Symptômes des principales infections vaginales
Tableau N°02 : Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée
Tableau N°03 : Composition de la flore vaginale avant la puberté, pendant la grossesse et après la
ménopause11
Tableau N°04 : Diagnostic différentiel et fréquence des principales vaginites 12
Tableau N°05 : Traitement recommandé contre l'infection vaginale 15
Tableau N°06 : Déroulement des prélèvements des pertes vaginales 20
Tableau N°07 : Appareillages, verreries et autres 20
Tableau N°08 : Réactifs, Tests, Milieux de culture et Colorants 21
Tableau N°09 : Résultats d'enrichissement dans le bouillon nutritif
Tableau N°10 : Résultats d'Ensemencement 36
Tableau N°11 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons étudiés
Tableau N°12 : Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés
Tableau N°13 : Résultats de l'antibiogramme des échantillons étudiés
Tableau N°14 : Résultats des galeries 20 E des échantillons étudiés
Tableau N°15 : Résultats des galeries 20NE des échantillons étudiés
Tableau N°16 : Distribution des germes et des taux d'infection.
Tableau N°17 : Distribution des germes identifiés dans le prélèvements vaginales
Tableau N°18 : Interprétation des résultats des galeries API 20E
Tableau N°19 : Interprétation des Résultats d'API 20 NE
Tableau N°20 : Statistiques des accouchements durant notre période d'étude dans la maternité AOURAI ZOHRA

Liste des annexes

Annexe N°01: Composition des milieux de cultures	55
Annexe N°02 : Anatomie de l'appareil génital féminin	58
Annexe N°03 : Résultat d'examen cytobactériologique des PV du 21 ^{éme} prélèvement	59
Annexe N°04 : Résultats de l'antibiogramme des PV du 21 ^{éme} prélèvement	60
Annexe N°05: Distribution des germes et taux d'infections	61
Annexe N°06: Interprétation des Résultats d'Api20E et Api 20NE des échantillons	62
Annexe N°07 : Coloration de Gram des échantillons étudiés	65
Annexe N°08: Technique d'antibiogramme	66
Annexe N°09: Technique d'identification microbienne commerciale	67
Annexe N°10: Résultats d'ensemencements	68
Annexe N°11 : Résultats de la coloration de Gram des échantillons étudiés	70
Annexe N°12: Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés	72
Annexe N°13 : Statistiques des accouchements durant notre période d'étude dans la mate	
AOURAI ZOHRA	13

Introduction

Les infections vaginales relèvent d'une altération de la flore vaginal et le remplacement de la flore normale où dominent des lactobacilles par d'autres espèces bactériennes qui se multiplient anormalement et créent un déséquilibre qui rend l'organisme et en particulier la flore vaginale (**Ngaba et** *al.*, **2014**).

Elles peuvent avoir de graves conséquences chez 15 à 25% des femmes enceintes : les fausses couches, la rupture de la poche des eaux avant le début du travail et accouchement avant terme...etc; dont elles occupent le deuxième rang (15%) parmi les causes contributives de décès maternels dans le monde où elles comptent pour 36% de tous les décès de nouveauné et 86% des décès néonataux (Saizounou et al., 2014; Bonola, 2014).

L'inflammation du vagin est associée à trois principaux types d'infection vaginale plus courants chez les femmes enceintes: vulvovaginite à *Candida*, vaginose bactérienne, vulvovaginite à *Trichomonas* et qui sont caractérisées par un écoulement vaginal anormal (leucorrhée) qui est définie par une multiplication pluri microbienne de bacteroides, d'un bacille incurvé mobile aujourd'hui dénommé *Mobiluncus* et de coques anaérobies, découvert la première fois par Curtis en 1914 (**Prudhomme et al., 2007 ; Tchelougou, 2012).**

La présence de tout leucorrhée ne signifie pas obligatoirement la présence d'une infection aussi comme n'est pas obligatoire d'avoir des signes lors d'une infection dont en trouve jusqu'à 30 % des femmes enceintes se retrouvent avec une infection vaginale asymptomatique (**Bonala**, 2014).

A la lumière de ces données, notre travail consiste à faire des examens cytobactériologiques des leucorrhées des femmes enceintes afin de rechercher et de déterminer les agents microbiens responsables des infections vaginales.

I.1. Historique

En 1914, Curtis est le premier quia associé les leucorrhées vaginales à une multiplication plurimicrobienne de bacteroides, d'un bacille incurvé mobile aujourd'hui dénommé *Mobiluncus* et de coques anaerobies. Il rend déjà ces espèces anaérobies responsables aussi d'endométrites du post-partum, le terme de « vaginite non spécifique «va regrouper toutes les infections vaginales ne relevant pas de la multiplication d'un micro-organisme reconnu pathogène, tel que *Trichomonas vaginalis* ou *candida albicans* (Alain et al., 2000).

En 1955, Gardner et Dukes décrivent un syndrome caractérisé par un écoulement vaginal malodorant, un pH vaginal plus élevé que normalement (<5), absence de *Lactobacilles*, et présence de cellules d'aspect particulier, les *clue-cells*. Celles-ci sont des cellules de l'épithélium vaginal recouvertes par un très grand nombre de *coccobacilles* à Gram négatif que Gardner et Dukes rendent responsables de la vaginite. Ils proposent d'appeler cette nouvelle espèce bactérienne, *Haemophilus vaginalis*. Cette bactérie avait en fait déjà été isolée en 1954 par Léopold dans l'écoulement urétral d'un homme ayant une prostatite et les leucorrhées de femmes ayant une cervicite. La description faite par Gardner constitue toujours aujourd'hui la base sur laquelle repose le diagnostic bioclinique de la vaginose bactérienne (**Prudhomme et al., 2007**).

Haemophilus vaginalis est devenu Corynebacterium vaginalis; puis en 1980 Gardnerella vaginalis. Nous ont utilisons des techniques d'isolement plus sensibles et des milieux de culture sélectifs, que cette bactérie pouvait aussi être isolée chez des femmes en absence de leucorrhée, puis que de nombreuses autres espèces bactériennes anaérobies en particulier – se multipliaient également au cour du syndrome décrit par Gardner. Un consensus s'est réalisé en 1984 pour lui donner le nom de vaginose bactérienne (VB) rendant mieux compte de l'absence habituelle d'inflammation vaginale et de la multiplication à côté de Gardnerella vaginalis, d'autres espèces bactériennes (Prudhomme et al., 2007).

Une avancé dans le management de la VB eut lieu quand on s'aperçut que le métronidazole prescrit pour traiter les vaginites à *Trichomonas* était toujours efficace quand une VB lui était associé. Avec la mise en évidence de risques accrus d'infection du

liquide amniotique et de chorioamniotite au cours d'accouchements prématurés une

nouvelle étape était abordée qui poursuit à ce jour, celle de la découverte et de la

caractérisation des complications sérieuses que peut entraîner une affection jugée jusque la

dépourvue de toute gravité (Alain et al., 2000).

I.2. Définition

Les infections vaginales constituent l'un des motifs de consultation les plus courants

en gynécologie. Ces infections relèvent d'une altération de l'écosystème vaginal, et le

remplacement de la flore normale où dominent des lactobacilles par d'autres espèces

bactériennes qui se multiplient anormalement et créent un déséquilibre entrainant une

inflammation (enflure et irritation) du vagin, caractérisée par un écoulement vaginal

anormale, un prurit, avec une odeur, ou une douleur (Ngaba et al., 2014).

I.3. Types d'infections vaginales plus fréquentes au cours de la grossesse

Selon **Prudhomme et al.**, (2007), les trois infections les plus souvent associées aux

pertes vaginales chez les femmes enceintes sont :

• Vulvovaginite à *Candida* : 25 à 40%

• Vaginose bactérienne : 30 à 40%

• Vulvovaginite à *Trichomonas* : 20 à 40%

I.3.1. Vulvovaginite à Candida

La candidose vulvo-vaginale (CVV) est l'une des infections gynécologiques les plus

fréquentes chez la femme en période d'activité génitale (Develoux et Bretagne, 2005),

(Vazquez et Sobel, 2002)

La candidose représente 25 % des affections vulvo-vaginales (vaginoses

bactériennes, vaginites à Trichomonas) (Ronald et Alfa. 1996).

Selon **Bonal** (2014), deux types de CVV peuvent être définis :

• CVV simple

Elle est retrouvée chez 90 % des patientes sans terrain sous-jacent. Elle est caractérisée par un épisode sporadique, une symptomatologie modérée et une prévalence de *C. albicans*.

• CVV compliquée

Elle est définie par la présence d'au moins une des situations suivantes : des signes cliniques sévères, un terrain sous-jacent la grossesse ou un diabète non déséquilibré, et une prévalence des *Candida non albicans*.

C.albicans est responsable de plus de 80 % des candidoses vulvovaginales. Cette espèce sécrète des adhésines permettant sa fixation à la muqueuse vaginale. Les *Candida* ont également la capacité d'exprimer des facteurs de virulence favorisant leur colonisation, en sécrétant des protéinases et des phospholipases. Ceci s'accompagne de modifications morphologiques : *C. albicans* passe de l'état saprophyte sous forme de blastospores à l'état pathogène sous forme filamenteuse. La levure se multiplie et un biofilm se forme sur la muqueuse rendant l'espèce moins accessible aux antifongiques (Bonala, 2014).

I.3.2. Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne constitue une des causes les plus fréquentes de leucorrhées chez la femme en période d'activité génitale. Elle est en effet diagnostiquée chez 15 à 40% des patientes consultants pour une leucorrhée, et chez 15 à 25% de femmes enceintes (**Prudhomme et al., 2007**).

Elle est la condition préexistante à la survenue d'une salpingite due à des anaérobies ou à des mycoplasmes (Vaubourdolle, 2013).

Au cours de la grossesse, le lien entre la vaginose bactérienne et la prématurité est maintenant clairement établi. Sa prévalence est de l'ordre de 7 à 25% de femmes enceintes dans les 16 premières semaines. Les traitements antibiotiques n'ont pas diminué significativement ce risque sans doute parce qu'ils étaient administrés trop tardivement au cours de la grossesse. Le dépistage précoce de la vaginose bactérienne pourrait donc

réduire ce risque. Dans les recommandations de l'HAS 2001, il n'est pas systématique mais proposé aux femmes ayant dans antériorités d'accouchement prématuré, une menace d'accouchement prématuré et des signes de vulvo-vaginites (**Levesque**, 2011).

La vaginose bactérienne résulte d'une modification de la flore vaginale avec le remplacement des *Lactobacillus sp.* Par une association de *Gardnerella vaginalis*, d'éspeces d'anaerobies divers : *Bactéroides sp, Prevotella sp*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus sp, Mobiluncs sp, Eubacterium sp, Fusobacterium sp, Veillonelle sp, et de Mycoplasma hominis* (Vaubourdolle, 2013).

Les lactobacilles (Lactobacillus crispatus, L. jensenii, L. iners, L. gasseri) sont les bactéries prédominantes de la flore vaginale dite normale. Ils assurent le maintien de l'écologie vaginale par la production de peroxyde d'hydrogène, d'acide lactique et de substances inhibant la croissance bactérienne (bactériocines), par leur adhérence aux parois vaginales (biofilm) et par le contrôle du pH vaginal entre 3,8 et 4,5. Ces mécanismes inhibent la multiplication d'autres bactéries dont la présence est possible à l'état normal (Corynebacterium spp, Streptococcus spp, Enterococcus, Gardnerella vaginalis, Mobiluncus spp, Candida albicans). La rupture de cet équilibre conduit à la vaginose bactérienne. (Lepargneur et Rousseau ,2002)

Une bactérie anaérobie résistante au métronidazole, *Atopobium vaginae* a été retrouvée par technique PCR chez les 70% des femmes présentant une vaginose bactérienne. Contrairement aux autres anaérobies, celle-ci n'est pas une composante de la flore normale (**Prudhomme et al., 2007**).

I.3.3. Vulvovaginite à *Trichomonas*

Ce type d'infection vaginale est moins prévalent que les autres types. La trichomonase est une infection sexuellement transmissible. Elle résulte de l'introduction du parasite *Trichomonas vaginalis* dans le vagin à la suite d'un rapport sexuel avec un partenaire infecté. Durant la grossesse, la présence de trichomonas a été associée à un risque accru de 40% que le bébé soit de faible poids et naisse avant terme (**Prudhomme et** *al.*, 2007).

De plus, à cause des effets inflammatoires que le trichomonas occasionne aux parois vaginales, la femme infectée est plus susceptible de contracter le VIH lors d'une relation sexuelle non protégée avec un partenaire infecté (**Levesque**, **2011**).

I.4. Symptômes d'infections vaginales

Le symptôme principal d'infections vaginales est la leucorrhée : correspondent à des écoulements vaginaux en rapport avec une infection génitale. Les symptômes d'infections vaginales sont résumés dans le Tableau suivant (CNGOF, 2010).

Tableau N°01 : Symptômes des principales infections vaginales selon (Vanroyan et *al.*, 2016)

Types d'infections Symptômes	Vaginose Bactérienne	Vulvovaginite à Candida	Vulvovaginite à trichomonas
Pertes	- Claires	- Epaisses - Blanches	- Rares à abondantes
Odeur	- Incommodante - Odeur de poisson	- Non incommodante	- Incommodante
Démangeaison	- Néant	- Démangeaison vulvaire	- Démangeaison vulvaire
Autres Symptômes		- Douleur - Irritation - Dyspareunie - Dysurie	- Dysurie - Douleur dans le bas ventre

I.4.1.Symptômes de la Vulvo-vaginite candidosique (infection à champignons)

Selon **Tchelougou** (2002), les symptômes les plus courants sont :

- Rougeurs sur les parties génitales externes (vulve, périnée la partie entre le vagin et l'anus - et la peau péri-anale).
- Enflure des organes génitaux externes.
- Démangeaisons.
- Douleurs (peuvent être présentes ou pas).
- Sensation de brûlure à la miction (assez fréquente).
- Pertes blanchâtres épaisses, souvent décrites comme ayant la même texture que le fromage cottage (fréquentes, mais le volume peut varier de peu à beaucoup trop abondant).
- Odeurs (relativement rares).
- Douleurs vulvo-vaginales occasionnelles au moment de la pénétration lors des relations sexuelles.

I.4.2. Symptômes de la Vaginose bactérienne

Selon Tchelougou (2002), les symptômes de la vaginose bactérienne sont :

- Pertes vaginales (crémeuses et de couleurs variables).
- Odeur de poisson (parfois plus prononcée après les relations sexuelles).
- Sensation de brûlure (parfois plus prononcée durant ou après les relations sexuelles).
- Crampes abdominales ou ballonnements.
- Rougeurs et démangeaison des organes génitaux internes et externes (intensité variable).

I.4.3. Symptômes de la Vaginite à Trichomonas

Selon Tchelougou (2002), les symptômes de la Vaginite à Trichomonas sont :

- Pertes vaginales (souvent verdâtres).
- vaginales Changement dans l'odeur des sécrétions.

• Démangeaisons des organes génitaux (parfois très intenses).

I.5. Principales causes d'acquisition des infections vaginales dans la grossesse

Les infections vaginales peuvent être provoquées par des bactéries, des levures et d'autres microorganismes.

Selon Levesque (2011), les conditions suivantes augmentent les risques d'infection :

- Abaissement du taux d'acidité (élévation du pH) des sécrétions vaginales :
 lorsque l'acidité vaginale est réduite, le nombre de bactéries protectrices présentes
 habituellement dans le vagin diminue, tandis que le nombre de bactéries qui
 provoquent une infection augmente.
- Manque d'hygiène : lorsque la sphère génitale n'est pas maintenue propre, le nombre de bactéries augmente, et cela accentue la probabilité d'infections bactériennes.
- **Sous-vêtements étroits et peu absorbants :** ce type de sous-vêtements peut retenir l'humidité, ce qui favorise le développement de bactéries et de levures.
- Lésions tissulaires : si les tissus pelviens sont lésés, les défenses naturelles du corps sont affaiblies. Les lésions peuvent provenir de tumeurs, d'une intervention chirurgicale, d'une radiothérapie ou d'anomalies structurelles telles que des malformations congénitales ou des fistules. Les fistules sont des connexions anormales entre les organes qui peuvent, par exemple, permettre au contenu de l'intestin (dont les bactéries) de pénétrer dans le vagin.
- Irritation : l'irritation des tissus vaginaux peut provoquer des fissures ou des ulcères, qui laissent dès lors les bactéries et les levures pénétrer dans la circulation sanguine.

Selon Vanroyan et al, (2016), les problèmes intimes pendant la grossesse dépendent plus précisément de trois facteurs principaux :

- Affaiblissement des défenses dans l'organisme.
- Augmentation de la taille de l'utérus.

• Augmentation de la rétention de liquides: La rétention d'eau est un phénomène très courant pendant la grossesse. Elle est due à une quantité d'eau plus importante dans l'organisme et une bonne circulation sanguine.

L'affaiblissement des défenses immunitaires rend l'organisme moins combatif face aux infections; l'utérus, plus gros, comprime les organes vitaux, dont la vessie, réduisant ainsi sa capacité de stockage de l'urine et enfin, l'augmentation de la rétention de liquides peut entrainer une prolifération des bactéries. Cumulés, ces facteurs favorisent le développement d'infections vaginales (**Rubin**, 1993).

I.6. Germes plus fréquents responsables des infections vaginales

Une infection vaginale est le plus souvent causée par des champignons ou des bactéries : lorsque le milieu vaginal est perturbé (rapports sexuels fréquents, règles,.. etc.), ces germes peuvent avoir tendance à se multiplier (**Prudhomme et al., 2007**).

I.6.1. Composition de la flore commensale vaginale

On appelle flore un ensemble de microbes qui vivent dans un organisme. Généralement, il s'agit de bactéries (**Berrebi et Ayoubi, 1999**)

La flore bactérienne dominante est composée d'une diversité de lactobacilles qui appartiennent essentiellement aux espèces *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii*, et *Lactobacillus iners*. La concentration usuelle des *lactobacilles* en l'absence de pathologie est située entre10⁵ et 10⁸ bactéries par gramme de sécrétion vaginale, Les principales espèces bactériennes d'intérêt médical retrouvées dans le milieu vaginal et leur origine écologique (Lansac, 2006)

Chez la femme indemne d'infection, le vagin héberge déjà 30 % de *Candida albicans* et bien d'autres germes qui ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions. Le *bacille de Dôderlein* est un *Lactobacillus acidophilus* (bacille gram+), immobile, aérobie, saprophyte habituel du vagin. Les autres germes rencontrés dans le vagin normal sont des aérobies (*Lactobacillus sp*) et anaérobies (*Bifidobactérium*) présents en quantité plus ou moins importante mais toujours minoritaire (**Rubin**, 1993).

La composition de la flore vaginale varie en fonction de la période de la vie génitale de la femme de la naissance à la puberté et après la ménopause, la flore vaginale est essentiellement constituée de germes d'origine cutanée et digestive (*corynébactérie*, *entérobactérie*, *bactéroïde ssp...*) (**Tab.N°02**) (**Rubin**, **1993**).

Tableau N°02 : Composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée (Lansac, 2006).

Flore dominante GROUPE 1 :	Flore bactérienne : le portage habituel et spécifiquement adaptée à la cavité vaginale : -Lactobacillus sp (Bacilles de Dôderlein) - Corynebactéries - Streptocoques.		
Flore dominante GROUPE 2 :	Elle est observée chez 2 à 80% des femmes selon les bactéries impliquées. Elle est constituée de : -Entérobactéries (Escherichia coli, Proteus) Anaérobies (Clostridium sp, Bacteroides, Mobiluncus) -Gardnerella vaginalis Candida albicans - Mycoplasmes (Ureaplasma, Mycoplasme hominis)		
Flore exceptionnelle GROUPE 3	Elle est observée chez 0,1 à 2% des femmes selon les bactéries en cause. Toutes les bactéries oropharyngées peuvent être isolées de la cavité vaginale mais le plus souvent il s'agit de : - Pneumocoques - Haemophilus influenzae et Haemophilus para influenzae - Streptococcus pyogenes, Streptococcus Pneumoniae -Neisseria meningitidis, autres Neisseria et moraxella		

I.6.2. Germes impliqués dans les infections vaginales chez les femmes enceintes

Selon **Keit** (2009), les germes les plus identifiés dans les PV des femmes enceintes sont présences dans le tableau suivant :

Tableau N°03: Composition de la flore vaginale avant la puberté, pendant la grossesse et après la ménopause selon (**Keit, 2009**)

Espèce bactérienne	Effectif de femmes positives			
	Prépuberté	Prépuberté Grossesse		
Lactobacillus sp	11(10 ⁵)	92(10 ⁷)	49(10 ⁵)	
Staphylocoques	68	86	59	
Corynébacteries	42	78	58	
Streptocoques α hémolytiques	42	59	74	
Gardenella vaginalis	0	58	27	
Bacilles anaérobies à Gram négatif	89(10 ⁷)	90(10 ⁴)	89(10 ⁴)	
Peptostreptococcus sp	89(10 ⁷)	92(10 ⁵)	88(10 ⁵)	
Mycoplasma hominis	0	23	0	
Ureaplasma urealyticum	20	82	13	

Au cours de la grossesse, la richesse en glycogène de l'épithélium vaginal s'accroît considérablement. Cela entraîne une augmentation de l'acide lactique et donc par conséquent une augmentation de l'acidité vaginale défavorable à la prolifération de différents agents infectieux excepté les levures (Berrebi et Ayoubi,1999)

I.7. Diagnostic d'une infection vaginale

Chez la femme enceinte, la vaginose bactérienne (VB) et le trichomonas sp peuvent entraîner des complications – rupture de la poche des eaux avant le début du travail et accouchement avant terme. Les femmes à risque d'infection de ce type devront donc faire un dépistage qu'elles soient symptomatiques ou non (**Tab.** N°04) (**OMS**, 2005).

Tableau N°04 : Diagnostic différentiel et fréquence des principales vaginites selon (Delcroix et Cheront , 1994)

	Vaginite à Candida	Vaginose bactérienne	Vaginite à Trichomonas
Leucorrhées			
•Couleur	Blanchâtre	Grisâtre	Verdâtre/j aune
• Aspect	« cailleboté »	Homogène fluide	Mousseux
• Adhérence	Oui	Non	Peu
• Odeur	Non	Oui	Parfois
Symptômes	Prurit intense	absent ou discret	dyspareunie
	Brûlures	sensation d'irritation	
	Dyspareunie	prurit, brûlures	
Signes inflammatoires	++ à +++	- ou ±	++
pH vaginal	<4	<4.5	>4.5
Test à l'odeur	-	+	-
Examen extemporané	Levures	Clue-cells Mobiluncus	Trichomonas
Prévalence(%)	25 à 40	30à 40	20 à 40

⁽⁺⁾ Présent (-) Non présence (±) Peut être présent comme peut ne pas être présent

⁽⁺⁺⁾ Présence (+++) Trop présents

• Test à l'odeur = test à la potasse (=Sniff -test)

Le fait d'ajouter une goutte de solution de potasse à 10% sur une goutte de leucorrhée prélevée sur lame à l'état frais, libère une odeur désagréable (poisson pourri) due à la libération d'amines aromatiques produites en présence d'une prolifération importante de germes anaérobies (Cardinale, 2001).

• Clue-cells

On observe au microscope au grossissement 40, entre lame et lamelle avec 1 goutte de liquide physiologique :

- La présence de nombreux micro-organismes de petite taille, souvent agglutinés en grappe et remplaçant la flore de lacto-bacilles normale.
- La présence de cellules indicatrices, les Clue-cells, cellules épithéliales à contours mal définis, tapissées d'innombrables petits bacilles (Bactéroïdes, Mobiluncus)

• pH

Abaissé entre 4 et 4.5, le pH est un argument de candidose, alors qu'une valeur> 5 oriente vers une autre étiologie, une *trichomonas* ou une infection mixte (**Lunardo et al.**, **1999**).

I.7.1. Diagnostic de la vulvovaginite à Candida

Le diagnostic de la CVV nécessite la tenue d'un examen pelvien. La présence concomitante d'un écoulement épais de couleur blanche et d'un prurit vulvaire ne dispose pas, à elle seule, de la sensibilité et de la spécificité nécessaires à l'établissement d'un diagnostic. La présence d'érythème et d'œdème en ce qui concerne les tissus vulvaires et vaginaux, conjointement avec celle d'un écoulement vaginal épais, blanc et grumeleux, permet de soutenir le diagnostic. Les sécrétions vaginales de la CVV présentent un pH<4,5. De plus, la présence de filaments pseudo-mycéliens et d'un bourgeonnement de levure peut être constatée dans une préparation à l'état frais. Le test à la potasse est négatif et la coloration de Gram pourrait révéler la présence de cellules poly morpho nucléaires, de filaments pseudo-mycéliens et d'un bourgeonnement de levure. Lorsque les résultats indiquent la présence d'une CVV compliquée, le prélèvement de sécrétions vaginales à des fins de mise en culture et de spéciation de la levure en cause pourrait contribuer à

l'orientation du traitement, en raison de la probabilité accrue de la présence de souches autres que *Candida albicans* dans de tels cas (Julievan et *al.*, 2015).

I.7.2. Diagnostic de la vulvovaginite à *Trichomonas*

T. vaginalis est détectable par l'examen extemporané d'un frottis vaginal à l'état frais entre lame et lamelle (CNGOF, 2006).

Idéalement, le transport vers le laboratoire devrait s'effectuer rapidement afin d'assurer la viabilité de l'organisme. Bien que l'organisme puisse être détecté au moyen d'un test de Papanicolaou, une telle détection n'est pas considérée diagnostique en raison de la faible sensibilité de ce test en ce qui concerne *T. vaginalis* (**Cardinale, 2001**).

I.7.3. Diagnostic de la vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne peut être diagnostiquée de façon clinique et/ou microbiologique. Les critères diagnostiques cliniques publiés en 1983 par Amsel et coll, toujours utilisés de nos jours, recommandent l'établissement d'un diagnostic de vaginose bactérienne lorsque trois des quatre facteurs suivants sont présents: écoulement vaginal adhérent et homogène; pH vaginal supérieur à 4,5; détection de cellules indicatrices (cellules épithéliales vaginales recouvertes si abondamment de bactéries que leurs contours s'en trouvent estompés) dans une préparation à l'état frais faisant appel à une solution saline; et/ou odeur d'amine à la suite de l'ajout d'hydroxyde de potassium (test à la potasse positif). Aux fins du diagnostic de la vaginose bactérienne, la coloration de Gram des sécrétions vaginales constitue la méthode microbiologique la plus vastement utilisée et celle qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études. La plupart des laboratoires utilisent un outil diagnostique objectif qui quantifie le nombre de morphotypes Lactobacilles et de bactéries pathogènes en vue d'établir un score qui est utilisé pour déterminer si l'infection est présente. Le système le plus couramment utilisé a été développé par Nugent et ses collègues, et est connu sous le nom de score de Nugent. L'obtention d'un score de 7 ou plus permet l'établissement d'un diagnostic de vaginose bactérienne. Un score se situant entre 4 et 6 est considéré comme intermédiaire, tandis qu'un score se situant entre 0 et 3 est considéré comme normal (Julievan et al., 2015).

I.8. Traitement des infections vaginales pendant la grossesse

Les infections vaginales au cours de la grossesse peuvent être sexuellement transmissibles ou non. Il faut les traiter car elles peuvent avoir un retentissement sur le bon déroulement de la grossesse (**Tab.N**°05).

Tableau N°05: Traitement recommandé contre l'infection vaginale (OMS, 2005)

	Premier choix	Autres médicaments hautement efficaces	Si la femme est enceinte ou allaitante
Vaginose Bactérienne Trichomonas	- Métronidazolea 2 g, par voie orale en dose unique. Ou - Métronidazolea400 ou 500 mg, par voie orale deux fois par jour pendant7 jours.	- Clindamycine crème à 2 %, un applicateur entier (5 g), par voie intra vaginale, au coucher, pendant 7 jours. ou - Clindamycine 300 mg par voie orale2 fois par jour pendant7 jours Tinidazolea 2 g, par voie orale, en dose unique. ou -Tinidazolea 500 mg, par voie orale deux fois par jour pendant5 jours.	De préférence après le premier trimestre - Métronidazolea 200 ou 250 mg par voie orale 3 fois par jour pendant7 jours. ou - Métronidazolea gel à 0,75 %, un applicateur entier (5 g) par voie intra vaginale 2 fois par jour pendant 5 jours. ou clindamycine300 mg par voie orale deux fois par jour pendant 7jours
Candidose	- Miconazole 200mgovule vaginal, un par jour pendant 3 jours. ou - Clotrimazoleb100mg, comprimés vaginaux, deux par jour pendant 3 jours ou -Fluconazole150mg comprimé oral en dose unique.	- Nystatine 100 000 unité comprimé vaginal, 1 par jour pendant 14 jours.	- Miconazole200 mg Suppositoire vaginal, un par jour pendant 3 jours, ou -Clotrimazol 100mgcomprimésvaginaux, deux par jour pendant 3jours ou - Nystatine 100 000unité comprimé vaginal, 1 par jour pendant 14 jours.

I.8.1. Traitement de la vulvo-vaginite à Candida

Pendant la grossesse, la CVV peut être prolongée et associée à des symptômes plus graves, et la résolution de ceux-ci nécessite habituellement un traitement de plus longue durée. Seule l'utilisation d'azoles topiques est recommandée pendant la grossesse. La mise en œuvre d'un traitement à l'imidazole en crèmes externes et en ovules intra vaginaux pendant une période pouvant atteindre 14 jours pourrait s'avérer requise. La mise en œuvre de traitements répétés pourrait également s'avérer nécessaire. L'utilisation de fluconazole oral devrait être évitée pendant la grossesse, car elle pourrait accroître le risque de tétralogie de Fallot. L'innocuité du fluconazole oral au cours des deuxième et troisième trimestres n'a pas fait l'objet d'études. L'administration intra vaginale d'acide borique a été associée à un risque plus que doublé d'anomalies congénitales lorsqu'elle est mise en œuvre au cours des quatre premiers mois de la grossesse. Elle devrait donc être évitée au cours de cette période (Julievan et al., 2015).

I.8.2. Traitement de la Vulvovaginte à Trichomonas

La présence d'une infection à *T. vaginalis* pendant la grossesse a été associée à l'accouchement pré terme. Lorsque la patiente est symptomatique et que les tests révèlent la présence d'une infection, la mise en œuvre d'un traitement est justifiée. Une certaine controverse entoure le dépistage et la prise en charge de l'infection chez les femmes asymptomatiques qui comptent des antécédents d'accouchement pré terme ou de rupture prématurée des membranes pré terme. Certaines études ont constaté que de telles interventions s'avéraient avantageuses, tandis que d'autres ont plutôt constaté des taux accrus d'accouchement pré terme chez les patientes traitées. L'utilisation de métronidazole pendant la grossesse est considérée comme étant sûre ; de nombreuses méta-analyses indiquent que le métronidazole ne donne pas lieu à une hausse du risque d'effets tératogènes. La dose de métronidazole dont l'utilisation est recommandée pendant la grossesse est la même que celle qui est recommandée en l'absence de grossesse (Julievan et al, 2015).

I.8.3. Traitement de la vaginose bactérienne

La présence d'un écoulement vaginal est courante pendant la grossesse et pourrait être physiologique. Chez les femmes qui connaissent des écoulements persistants, la tenue d'un dépistage des infections affectant les voies génitales inférieures (vaginales et cervicales) est recommandée. Lorsqu'un diagnostic de vaginose bactérienne est établi chez une femme enceinte symptomatique, la mise en œuvre d'un traitement s'avère indiquée. Les lignes directrices de l'ASPC sur les ITS recommandent l'utilisation de métronidazole, à raison de 500 mg par voie orale deux fois par jour pendant sept jours, ou de clindamycine, à raison de 300 mg par voie orale deux fois par jour pendant sept jours. L'utilisation d'agents topiques n'est pas recommandée. Le traitement donne lieu à des taux de réussite relativement modérés, certaines femmes en venant à connaître des taux élevés de récurrence pour une discussion détaillée sur les implications de la vaginose bactérienne pendant la grossesse et sur ses liens avec les issues de grossesse indésirables (Cardinale, 2001).

I.9. Moyens de lutte contre les infections vaginales

Selon **Cardinale** (2001), les meilleurs moyens de lutte contre toute infection vaginale sont comme suit :

• Toilette quotidienne externe

Il faut conseiller des produits adaptés à la physiologie féminine, ni trop acides, ni trop alcalins. Pour la toilette quotidienne de la vulve principalement, le vagin étant considéré comme autonettoyant, on conseillera un produit de toilette aux propriétés adoucissantes et protectrices à pH neutre ou alcalin si la femme souffre souvent d'infection vaginale.

• Douches vaginales

Elles altèrent la flore vaginale. Elles ne doivent pas être pratiquées plus de deux fois par semaine, ni dans les 24 heures qui précèdent un examen gynécologique ou un prélèvement.

• Port de vêtements serrés

Il faudrait conseiller de faire attention aux pantalons très moulants et aux sousvêtements en fibres synthétiques qui favorisent le développement des infections.

• Lutter contre le stress

En raison de la production de béta - endorphine, le stress et l'anxiété sont également des facteurs importants de déséquilibre de la flore vaginale.

Ainsi selon **Rubin** (1993), les meilleurs conseils pratiques pour éviter toute contamination sont comme suit :

- Respecter le partenaire et éviter d'avoir des relations lorsque l'on présente un écoulement de couleur qu'il soit vert, bleu, grisâtre ou blanc épais.
- Uriner si possible avant un rapport pour éviter une congestion locale trop active qui pourrait être à l'origine de petites traumatismes, donc de petites érosions perméable aux microbes.
- Ne pas hésiter, devant tout signe anormal, à demander à son médecin des analyses bactériologiques.
- Refuser les traitements minute qui laissent toujours subsister des microbes ou des parasites.
- Choisir comme désinfectant général, qui est de l'eau de javel très diluée, parce que seul ce produit a une action antivirale et une action antimicrobienne reconnues.
- Faire une toilette intime dans les dix minutes qui suivent un rapport sexuel. Il est rare que les germes aient eu le temps de s'installer au moment de leur installation.

II.1. Objectif

L'objectif de notre travail est la détermination des agents responsables des infections vaginales chez les femmes enceintes par des examens cytobactériologiques des pertes (Leucorrhées).

II.2. Lieu et durée du travail

- Notre travail a été déroulé en deux lieux :
- La maternité AOURAI ZOHRA de la wilaya de Tiaret.
- Le laboratoire de Microbiologie de faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun Tiaret.
 - La durée de notre travail a été du 04 Février 2018 au 31 Mars 2018.

II.3. Matériel

II.3.1. Matériel biologique

C'est une série de 20 échantillons des pertes vaginales pratiqués sur des patientes de la maternité avant leur accouchement et qui sont dans le tableau N^o 06 :

Tableau N°06 : Déroulement des prélèvements des pertes vaginales

Date de	Numéro	Age de la	Date d'entrée	Nombre de	Nombre
Prélèvement	d'échantillon	patiente	de la patiente	grossesse	d'enfants
			à la maternité		
	01	24	05/02/18	01	00
	02	36	05/02/18	03	02
07/02/2019	03	35	06/02/18	03	02
07/02/2018	04	26	05/02/18	02	01
	05	24	05/02/18	02	01
	06	30	08/02/18	02	01
	07	38	10/02/18	02	01
11/02/2018	08	20	07/02/18	01	00
11/02/2016	09	34	08/02/18	02	01
	10	32	10/02/18	01	00
	11	27	17/02/18	01	00
	12	27	16/02/18	03	02
18/02/2018	13	26	18/02/18	02	01
10/02/2010	14	36	17/02/18	02	01
	15	29	12/02/18	03	02
	16	28	21/02/18	02	01
	17	22	21/02/18	01	00
22/02/2018	18	22	21/02/18	02	00
44/04/4018	19	29	21/02/18	02	01
	20	26	20/02/18	03	02

II.3.2. Matériel du laboratoire

Les différentes verreries et appareillages utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le tableau N° 07 :

Tableau $N^{\circ}07$: Appareillages, verreries et autres

Verrerie	Autres
 Tube à essai Flacons Becher Éprouvette Pipettes Pasteur Capillaires Lames 	Boites de Pétri-Micro pipette –Ance de platine-barreau magnétique- bec bunsen- Ecouvillons - Gants - Masques chirurgicaux- Papiers absorbants -Pince en bois- Pince métallique – portoirs de tube –Support pour lames- Seringue stérile
]	Tube à essai Flacons Becher Éprouvette Pipettes Pasteur Capillaires

II.3. 3. Produits utilisés

Les produits et les milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau N°08: Réactifs, Milieux de culture et Colorants

Milieux de	Réactifs	Autres
culture		
Chapman Hektoen Mac Conkey Salmonella- Shigella(SS) Sabouraud Gélose nutritive Bouillon nutritif Muller-Hinton Agar-agar	TDA VP1 VP2 Nitrate1 Nitrate2	Eau distillée Eau physiologique Eau de javel Huile d'immersion Huile de paraffine NaCl NaoH H2O2 Alcool 90° Disque d'oxydase Disque d'ONPG Galerie (API20E et API20NE)
	culture Chapman Hektoen Mac Conkey Salmonella- Shigella(SS) Sabouraud Gélose nutritive Bouillon nutritif Muller-Hinton	Chapman Hektoen Mac Conkey Salmonella- Shigella(SS) Sabouraud Gélose nutritive Bouillon nutritif Muller-Hinton TDA VP1 VP1 Slamonella- VP2 Nitrate1 Nitrate1

La composition des milieux de culture est mentionnée dans l'annexe n°01.

II.4. Méthodes

II.4.1. Protocole expérimental

Les étapes suivies dans notre travail sont détaillées dans la figure N°01.

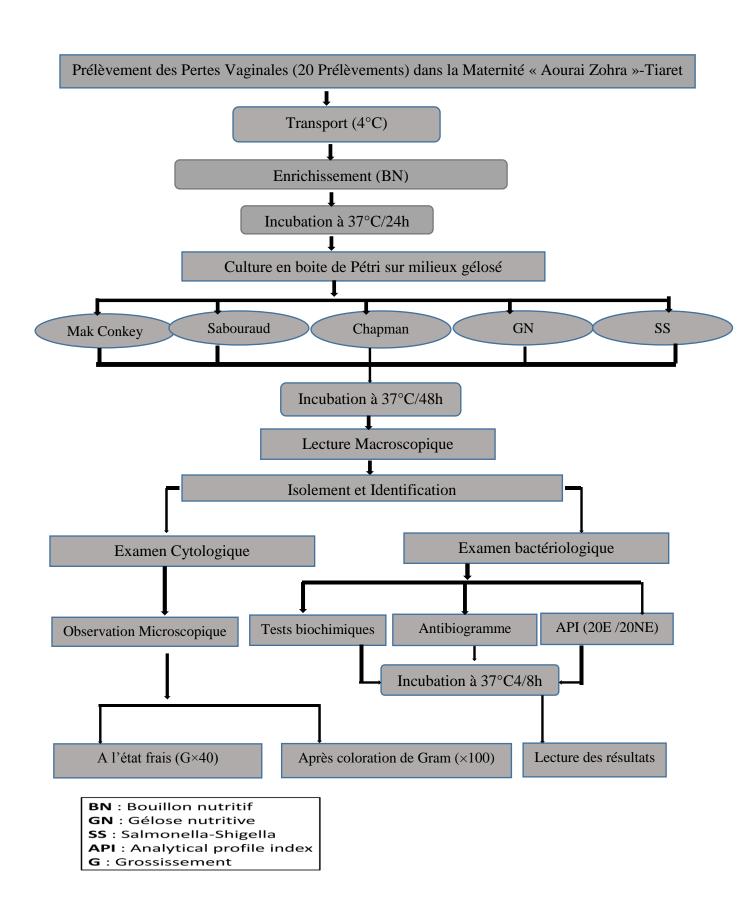


Figure N°01 : Schéma du protocole expérimental

II.4.2. Prélèvements des pertes vaginales

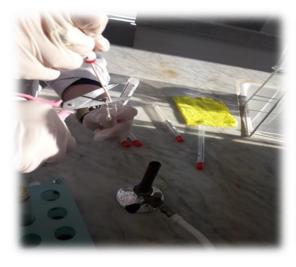
Les prélèvements ont été faits sur les pertes vaginales des femmes enceintes de la maternité à l'aide des écouvillons stériles en présence d'une sage-femme.

> Procédure du prélèvement

- 1. Prendre des écouvillons stériles.
- 2. Etaler un carré de drap d'examen sur la table gynécologique.
- 3. Installer la patiente en position gynécologique
- **4.** Eclairer avec la lampe d'examen
- **5.** Porter les gants.
- 6. A l'aide d'un écouvillon, prélever les sécrétions au niveau du cul de sac postérieur.
- 7. Libérer la patiente, jeter le drap d'examen utilisé dans la poubelle des objets non contaminés.
- 8. Acheminer échantillon au niveau de laboratoire.

II.4.3.Enrichissement dans des Bouillons nutritifs

Dans une zone d'asepsie on prend les écouvillons des prélèvements et à l'aide des ciseaux stériles on les coupe et on les pose directement dans des tubes qui contiennent le Bouillon nutritif (**Fig.2-3**).



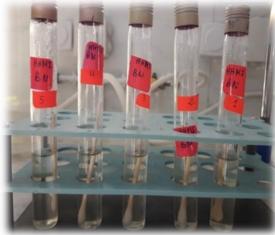


Figure N°02 : Découpage des écouvillons

Figure N°03: Enrichissement dans BN

Et enfin ont les met dans un incubateur qui est réglé à une température de 37°C pendant 48h (AOA, 2002).

II.4.4. Ensemencement sur milieux de culture sélectifs

Avant tout ensemencement et dans une zone d'asepsie on coule les cinq milieux de culture (Chapman, Mac Conkey, SS, Sabouraud, GN) dans des boites de Pétri, et après leurs séchages et refroidissement, on prend quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'aide d'un capillaire et on les déposent dans la boite gélosé puis à l'aide d'une pipette on effectue des stries dans un mouvement de va-et-vient uniquement sur la surface (Fig.4 et 5), puis on refait la même technique pour le reste des boites (**Dellaras,2007**)



Figure N°04 : Dépôt des gouttes

Figure N°05 : Ensemencement de suspension bactérienne.

II.4.5.Examen Cytologique

On a réalisé l'examen cytologique des échantillons en suivant les étapes suivantes :

II.4.5.1. Observation macroscopique est base sur l'observation de :

• La couleur et l'odeur des pertes.

II.4.5.2. Observation microscopique a l'état frais

a. Principe

L'examen à l'état frais consiste sur l'observation microscopique des bactéries vivantes. Cette méthode permet de mettre en évidence :

- Morphologie des bactéries.
- Mobilité: une bactérie mobile doit se déplacer dans le champ microscopique avec un mouvement qui lui est propre.
- Le mode de regroupement c'est-à-dire comment elles sont disposées ; libre ou liées.

b. Technique

Toujours dans une zone d'asepsie :

- 1. On prend une lame propre
- 2. On dépose une goutte d'eau distillée
- 3. On prend une petite colonie de la boite Pétrie à l'aide d'une l'anse de platine stérile.
- 4. Homogénéiser la suspension diluée très bien.
- 5. Recouvrir d'une lamelle stérile au-dessus de la lame.

6. c. Lecture

Observation de la mobilité à l'objectif x40 : une bactérie est dite mobile si elle se déplace dans le champ du microscope avec un mouvement qui lui est propre, les autres bactéries restant immobiles ou se déplaçant dans une autre direction (**Dellaras**, 2007).

➤ II.4.5.3. Observation microscopique après coloration de Gram

a. Principe

La coloration de Gram est la plus utilisée en microbiologie pour étudier la classification des bactéries. Le processus permet de séparer la plupart des bactéries en 2 groupes par rapport à la proportion de peptidoglycanes contenue dans les membranes :

- Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycanes et pauvres en lipides
- Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycanes et plus riches en lipides (**Dellaras. 2007**).

b. Technique

La coloration de Gram est réalisée selon AOAC (2002) (voir annexe n°07).

> Préparation du Frottis

En effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 min.

> Réalisation de la coloration

La coloration de Gram est réalisée selon Dellaras (2007) (Voir annexe n°07).

c. Lecture (Observation microscopique)

Observer à l'objectif 100 (G ×100) en déposant une goutte d'huile à immersion.

II.4.6.Examen bactériologique

L'examen bactériologique comprend tous les tests classiques, l'antibiogramme et les systèmes d'identifications microbiennes commerciales (Api).

II.4.6.1.Identification biochimique

> Test d'oxydase

a. Principe

Le test d'oxydase met en évidence la présence de cytochrome C dans les chaines respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que ce dernier (**Dellaras**, 2007).

b. Technique

- 1. Sur une lame propre déposer un disque d'oxydase imprégné de diméthylepara-phénylediamine.
- 2. Humidifier le disque avec quelques gouttes d'eau distillée stérile.
- 3. À l'aide d'une pince métallique prendre la bactérie à identifier et la déposer sur le disque (**Dellaras**, **2007**).

c.Lecture

Apparition d'une coloration violette immédiatement : la souche est dite oxydase positive (**Dellaras**, 2007).

> Test de catalase

a. Principe

La catalase dégrade l'eau oxygénée issue de la voie respiratoire oxydative directe en eau et en oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse (Marchal et al., 1982).

b.Technique

Sur une lame et à l'aide d'une pipette pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes) (Marchal et al., 1982).

c.Lecture

Catalase (+): effervescence (bulles gazeuses).

Catalase (-): pas d'effervescence (Marchal et al., 1982).

> Test TSI (Triple Sugar-Iron Agar)

a. Principe

La gélose TSI (Triple SugarIron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose et du saccharose (avec ou sans production de gaz) (Marchal et al., 1982).

b. Technique

- 1. Une colonie est ensemencée en réalisant une piqure centrale dans le culot et des stries serrés sur la pente.
- 2. Remettre le bouchon du tube sans le revisser.
- 3. Incubation à 30°C pendant 24 h (Marchal et al., 1982).

c.Lecture

La lecture des résultats est comme suit :

- Lactose-saccharose positif: pente virant au jaune
- Glucose positif: culot jaune
- H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot.
- Production de gaz : présence de bulles de gaz dans le culot (Marchal et *al.*, 1982).

> Test de l'ONPG

a. Principe

Ce test permet de rechercher la présence d'une enzyme intracellulaireβ-galactosidase libérée de la cellule bactérienne qui va agir sur un galactose substitué, l'orthonitrophénylbeta-D-galactopyranoside ou ONPG qui permet l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose par libération d'orthonitrophénol, qui présente une coloration jaune très stable (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

Une suspension de germe à étudier a été dans le l'eau physiologique, par la suite un disque d'ONPG a été ajouté. Enfin, l'incubation a été faite à 37°C pendant 30min (Marchal et *al*, 1982).

c. Lecture

La lecture des résultats a été basée sur la changement de couleur car l'apparition d'une coloration jaune indique que la bactérie a un ONPG positif et l'absence de coloration indique ONPG négatif (Marchal et al., 1982).

➤ Recherche des décarboxylases (LDC; ODC; ADH)

a. Principe

Les décarboxylases bactériennes :-Lysine décarboxylase (LDC).

- -Ornithine décarboxylase (ODC).
- Arginine dihydrolase (ADH).

Sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

- 1. Le test est réalisé avec le milieu Muller réparti dans 4 tubes à hémolyse différents : le premier tube constitue le témoin. Il contient essentiellement du glucose en petite quantité du pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH, les trois autres tubes contiennent en plus du milieu témoins, un des trois acides aminés suivants : Arginine, Lysine ou Ornithine.
- 2. après ensemencement, 1ml de vaseline stérile est ajouté dans chaque tube et le tout sera incubé à 30°C pendant 24 à 48h (Marchal et al., 1982).

c. Lecture

- La réaction est positive lorsque le témoin vire au jaune (acidification du milieu due à l'utilisation du glucose) ; Les tubes contenant l'acide aminé restent violet (phénomène due à l'alcalinisation).
- la réaction est négative lorsque les tubes contenant l'acide aminé et le témoin virent au jaune (acidification) (Marchal et al., 1982).

> Test du citrate de Simmons

a. Principe

Le citrate de Simmons est un milieu de culture utilisant le citrate comme seule source de carbone (Marchal et *al.*, 1982).

b. Technique

- 1. La pente du milieu est ensemencée d'une suspension bactérienne, par stries longitudinales au moyen d'une anse.
- 2. Les tubes sont légèrement fermés.

3. L'incubation se fait à 30°C pendant 3 à 5 jours. L'observation a lieu chaque jour (Marchal et *al.*, 1982).

c.Lecture

La croissance de la bactérie sur le milieu indique que cette dernière possède du citrate perméase. Cependant s'il n'y a pas de développement, la bactérie ne possède pas cette enzyme (Marchal et al., 1982).

> Test du mannitol-mobilité

a. Principe

Ce test vérifié dans le milieu mannitol-mobilité, permet la recherche de la mobilité et la fermentation du D-mannose par les bactéries, qui conduit à la formation d'acide à chaines très courtes (acide acétique, acide formique) (Marchal et al., 1982).

b. Technique

Un ensemencement a été effectué par piqure centrale, à partir de culture en milieu semi-solide puis un étuvage a été réalisé à 37°C pendant 24 h (**Marchal et** *al.*, **1982**).

c. Lecture

Si la bactérie est mannitol (+), et mobilité est (+), on observe le jaunissement du milieu avec libération de H₂S (Marchal et *al.*, 1982).

II.4.6.2. Antibiogramme

a. Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus (Marchal et al., 1982).

b. Technique

La standarisation de la suspension bactérienne est égale $\grave{a}(0,5)$ Mc Farland; Elle est réalisée selon (**Richad et** *al.*, **2015**).

c. Lecture

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CMI.

Elle correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24h (**Richad et** *al*, **2015**).

> Mode Opératoire

1. Préparation de la suspension bactérienne

A l'aide d'une l'anse de platine stérilisée en prend des colonies isolées de la boite de pétri qui contienne la souche bactérienne et en les déposes dans des tubes de BN, puis en les incubes à 3°Cpour 24h.

2. Coulage

- -Couler le milieu de culture MH (Muller Hinton) dans des boites de pétris.
- -Laisser prendre en masse.

3. Réglage de la concentration après

- Couler la gélose dans une boite de Pétri
- Laisser prendre en masse
- En prend un spectrophotomètre et en le règle a une langueur d'onde de 625.
- En prend deux tubes à essai l'un qui contient la suspension bactérienne pure et l'autre qui est diluer par le BN
- En remplis la cuve de spectre par la suspension bactérienne diluée pour régler sa concentration qui doit être dans l'intervalle de (0.08-0.13). (si en la trouve supérieure à 0.13 en ajoute le BN propre et si elle est inférieur de 0.08 en ajoute la suspension bactérienne) jusqu'à l'obtention d'une bonne concentration.

4. Ensemencement

- Prélever 2 ou 3 gouttes de la suspension bactrienne de concentration réglée,
 les déposer à la surface de la gélose et les étaler avec un râteau.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée (10 à 15 min).

Déposer les disques de celluloses imprégnées d'antibiotiques (Céfalotine, Rifampin, Gentamicin, Ampicilin, Erythromycine, Doxyciline, Polymixin, Oxaciline, Amoxycilin, Erythromycilin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Lincomicin, Cephalexin).

c.Lecture

L'activité de chaque antibiotique sera appréciée, par le diamètre de l'auréole d'inhibition provoqué autour du disque. La culture bactérienne s'arrête lorsqu'elle rencontre une concentration égale à sa CMI. La mesure du diamètre d'inhibition reflète donc la valeur de la CMI de l'antibiotique, en dit qu'une souche est sensible à un antibiotique si son diamètre d'inhibition est supérieur a (25mm) (**Dellaras**, 2007)

II.4.6.3. Systèmes d'Identifications microbiennes commerciale (la galerie Api 20 E et Api 20 NE).

a .Principe

Une galerie API (analytical profile index) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés (Marchal et al., 1982).

b.Technique

- A l'aide d'une lance de platine stérilisée on a prélevé des grosses colonies isolées des souches bactériennes qui se trouve dans les boites de Pétries puis on les a Inoculé dans les tubes qui contiennent l'eau physiologique stérilisée.
- Préparer et standardiser la suspension bactérienne à (0,5) Mc Farland (Marchal et al., 1982) (Voir annexe n°09).

c. Lecture

- On a ajouté les réactifs appropriés aux compartiments :
- ➤ 1 goutte de réactif de Kovac à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent)
- ➤ 1 goutte de réactif de Barrit A et B au VP (une réaction positive peut prendre jusqu'à 10min)
- ➤ 1 goutte de Fe Cl₃ au TDA2.

- Puis on a fait la lecture de tous les autres tests, sans l'ajout de réactif
- Et enfin on a noté les résultats et comparer les réactions positives avec le tableau de différentiation et on a fait des prises de photos (Marchal et *al.*, 1982).

III. Résultats de l'isolement à partir des prélèvements vaginales

Après l'enrichissement des prélèvements de 20 patientes, on a observé des troubles (changement de couleur) où le milieu devient opaque dans 13 tubes ; cette modification de l'aspect et la couleur du milieu d'enrichissement sera considéré comme indice de présence des germes (**Tab.09**).

Tableau $N^{\circ}09$: Résultats d'enrichissements dans le bouillon nutritif

Echantillon	Observation	Nombre de cas positifs	Résultats observées
01	/		
02	Trouble	3/5	
03	Trouble	(Fig.6)	
04	Trouble	\ U /	
05	/		Figure 6 : Résultats d'enrichissement des échantillons 1, 2, 3, 4 et 5
06	Trouble		THE SECOND SECOND SECOND
07	Trouble	3/5	
08	/	(Fig.7)	
09	Trouble	(1 ig.)	
10	/		Figure 7 : Résultats d'enrichissement des échantillons 6, 7, 8, 9 et 10
11	Trouble		
12	Trouble	4/5	E11 A9 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10
13	Trouble	(Fig.8)	
14	Trouble	(115.0)	
15	/		Figure 8 : Résultats d'enrichissement des échantillons 11, 12, 13, 14 et 15
16	Trouble		70 (20) (20) (20)
17	/	3/5	
18	Trouble	(Fig 0)	
19	/	(Fig.9)	
20	Trouble		Figure 9 : Résultats d'enrichissement des échantillons 16, 17, 18, 19 et 20
Effect	if Total	13/20	22, 21, 20, 27

(/) : Pas de changement

Après l'ensemencement des vingt prélèvements dans cinq milieux différents; l'incubation se fait pendant 48h. Nous avons fait l'observation macroscopique comme première étape de lecture des résultats mentionnés dans (**Tab.10-Fig.9**, **10,11**, **12**).

Tableau N°10 : Résultats d'Ensemencements après incubation

Milieu Echantillon	SS	Hektoen Mac conkey	Chapman	Sabouraud	GN
01	/	/	Des petites colonies en amas	Petites colonies blanche jaunâtres	Des grandes colonies blanches
02	Des grandes colonies jaunes avec un centre noir	Des grandes colonies	/	Des petites colonies en chainettes	Des petites colonies blanches en amas
03	Des grosses colonies jaunes à centre noir en chainettes et en amas	Des petites colonies marron séparées et d'autres marrons en chainettes	/	Des trop petites colonies en chainettes blanches	Des grandes colonies blanches séparées et d'autres en chainettes
04	Des grandes colonies jaunes de centre noir séparer et en chainettes	Des grandes colonies marron séparées	Des trop petites colonies blanches en amas	Des petites colonies blanches et un grand champignon	Des petites colonies blanches en chainettes
05	Des grandes colonies noire sur le tour de la boite de pétri	/	Trop petites colonies en amas	/	Des petites colonies blanches séparées
06	/	/	Des petites colonies blanches distribuées	/	Des grandes colonies en amas blanches jaunâtres
07	Des petites colonies noires en chainettes	Présence des grandes colonies vertes et jaunes en chainettes	/	Présence des grandes colonies jaunes et blanches séparées	Toute la boite colorée en vert en présence des colonies vertes.
08	/	/	/	/	/

09	Des grandes colonies noires en amas et des petites colonies séparées	Toute la boite est colorée en vert en présence des colonies	Présence des colonies en chainettes jaunes	Des petites colonies jaunes en amas sur le tour de la boite	Trop petites colonies blanches en amas
10	/	/	/	/	/
11		/	/	/	/
12		Des grandes colonies jaunes séparées	Des petites colonies blanches	/	Des petites colonies blanches en chainettes
13			Des trop petites colonies blanches en chainettes	7	Aucune observation
14			Des petites colonies blanches séparées et en chainettes	Présence des levures	Des petites colonies blanches séparées
15		/	/	Présence des levures	Boite contaminée
16		Des petites colonies roses	/	Des petites colonies blanches jaunâtres	Aucune observation
17		/	Des petites colonies blanches séparées	Trop peu de petites colonies blanches	Aucune observation
18		/	Des colonies blanches séparées	/	/
19		/	Des petites colonies blanches	Des colonies blanches en chainettes	Aucune observation
20		Des petites colonies roses	Des petites colonies blanches	/	/

(/) Aucune observation

Les photos des résultats d'ensemencements après incubation sont toutes représentées dans l'annexe $n^{\circ}10$.

Et ainsi chez les échantillons 3-4 et 7 nous avons remarqué que la présence des germes a été dans les milieux GN et Hektoen d'une manière corrèlent dans l'aspect des colonies; Dans ce cas on peut dire que le type de germe présent dans ces prélèvements est de type d'entérobactéries.

- ➤ Pour les autres échantillons 16-17-18-19 et 20 nous avons observé une présence de germe dans un seul milieu, soit dans le milieu Hektoen soit dans Chapman; Dans ce cas le germe présent est un seul type *Entérobactéries sp* ou *Staphylocoques sp*.
- ➤ Comme on a observé aussi dans les échantillons: 1-2-3-4-7-9-14-15-16-17-20 la présence des petites colonies blanches dans le milieu de sabouraud ;Ces colonies sont des levures de type de *Candida sp* ces dernières sont présentes à l'état normal (flore normale) mais peuvent engendrer des infections vaginales lorsque le seuil dépasse les limites ou bien devient très important dans ce cas on assiste à des infections vaginales d'origines de *Candida* ;Aussi ces levures présentent une forme filamenteuses à l'état pathogène.
- ➤ Pour les échantillons8 et 10-11nous avons remarqué l'absence de tout type de colonies dans tous les cinq milieux dans ce cas on peut dire qu'il n'existe pas d'infection chez deux patientes.
- Concernant le milieu de sabouraud nous avons observé la présence de levure chez 55% des femmes enceintes choisies avec une absence remarquable chez les autres ; les levures présentes chez eux ne sont pas fortement pathogènes, ce sont des levures appartient de genre de *Candida*.

III.3. Résultats d'identification biologique

Dans l'étude biologique des prélèvements (examen à l'état frais entre lame et lamelle) dans les milieux de cultures (Sabouraud, Hektoen , chapman et GN) , nous avons remarqué l'absence de la mobilité totale dans les milieux de Hektoen , chapman et GN et une mobilité dans le milieu de sabouraud ; la mobilité observée peut être expliqué par la présence des colonies mobiles.

Après la réalisation de la coloration de Gram pour distinguer les germes à Gram négatif et les germes à Gram positif; nous avons observé la présence des différentes colonies

III.4. Résultats de l'examen bactériologique

Tous les résultats d'examen bactériologique sont représentés dans (Tab.12, 13,14 et15)

III.4.1. Résultats d'identification biochimique d'Api 20E et Api 20NE

D'après la réalisation des tests classiques dans le but de la recherche de certains caractères des bactéries isolées comme indiqué dans (**Tab.12**) certains tests ont pour rôle d'identifier les bactéries de Gram négatif des bactéries à Gram positif comme: oxydase, catalase; par contre les autres tests sont dont le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux Entérobactéries et souvent facilité par la recherche de la lysine décarboxylase (LDC), de l'orthinine décarboxylase (ODC) et de l'arginine di hydrolase(ADH).

Tableau N°12: Résultats des tests biochimiques des échantillons étudiés

Echantillon	Test Milieu	oxydase	catalase	ODC	LDC	ADH	ONPG	Citrate de Simmons	TSI	MM
12	Chapman							+	-	+
	GN							+	-	+
13	Chapman	+	+	+	+	-	+	-	-	
14	Chapman							-	-	+
	GN	+	+	+	+	+	+		-	-
17	Chapman							-	-	+
	Chapman							-	-	+
18	Mac Conkey	1	1	1	-	•	+	+	1	+
19	Chapman							1	•	+
	Chapman	-	-	+	-	-	-	-	-	+
20	Mac Conkey	1	1	•	-	•	+	+	1	+

- (+) Résultat positif.
- (-) Résultat négatif.

III.4.3.Résultats d'API

Apres l'utilisation de la méthode d'API web pour identifier les bactéries nous avons trouvé les germes repartis dans **l'annexe N°06**; Nous avons remarqué la présence des bactéries connues dans les infections vaginales comme *Escherichia coli*; aussi la présence des autres bactéries moins connues dans les infections vaginales en citant: *Klebseilla sp*; *Pasteurella sp*; Ces germes doit être mises parallèlement avec les signes cliniques des patientes en cas de recherche d'infection.

Tous nos résultats du Systèmes d'identifications microbiennes commerciales d'Api 20E et Api 20 NE sont représentés dans les deux tableaux (**Tab.14-Tab.15**) :

Tableau N°14 : Résultats des galeries 20E des échantillons étudiés

ET	N°17 Milieux : Chapman	N°19 Milieux : Chapman	N°20 Milieux : Chapman	N°20 Milieux : Mac Conkey
ONPG	+	+	+	+
ADH	+	+	+	-
LDC	+	-	+	+
ODC	+	-	+	+
CIT	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-
URE	+	-	-	-
TDA	-	-	1	-
IND	-	-	-	-
VP	-	-	1	-
GEL	-	-	+	-
GLU	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+
INO	-	-	+	+
SOR	+	+	+	+
RHA	+	-	+	+
SAC	-	+	+	+
MEL	-	+	1	-
AMY	-	+	+	-
ARA	-	-	+	+
OX	/	/	1	+
CODE	7114130	3004561	7106733	5104732

Tableau N^{\circ}15 : Résultats des galeries 20NE des échantillons

E	N°18	N°18
	Milieux:	Milieux : Mac Conkey
T	Chapman	
NO3	+	+
TRP	-	-
GLU	+	-
ADH	+	+
URE	+	+
ESC	-	-
GEL	+	+
PNG	+	+
GLU	-	-
ARA	+	+
MNE	-	-
MAN	-	-
NAG	-	-
MAL	-	-
GNT	-	-
CAP	-	-
ADI	-	-
MLT	-	-
CIT	-	-
PAC	-	-
OX	/	+
CODE	5331000	1331000



(Ech.18-Milieu.Chapman)



(Ech.18-Milieu. Mac-Conkey)

Figure N°16 : Résultats d'API 20 NE d'échantillon 18

Discussion générale

Le diagnostic cytobactériologique nous a permis d'identifier et d'impliquer plusieurs germes à partir de 20 prélèvements. 90% des résultats ont positifs dont le germe le plus rencontré est *Candida Sp* avec 50%, *Staphylococcus sp* occupe la deuxième place avec 35% et une présence des entérobactéries dans 15% des échantillons (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*).

En comparent nos résultats à d'autres recherches nous avons trouvé que la distribution des germes identifiés dans nos prélèvements est similaire par rapport à **Tchelougou et al**, (2013) qui sont comme suite: *G. vaginalis* et *Candida Sp* sont des agents infectieux représentent plus de 80 % des germes identifiés suivi de *T. vaginalis*, *Mobiluncus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Yersinia enterolytica* et *Enterobactercloacae* qui ont compté pour moins de 20 %.

Jamili (2010), a trouvé dans l'étude de la prévalence prospective des candidoses vulvovaginales chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction MOHAMED V de Rabat que 26 % montrant des levures et/ou des pseudo filamments, alors que la culture est positive de 23 % et les espèces les plus fréquemment isolées sont *Candida albicans* (69%) suivi de *Candida glabrata* et *Candida tropicalis* à fréquence égale 15,5%.

Les facteurs de risque impliqués dans la survenue d'une candidose vulvo-vaginale sont : la grossesse, les mauvaises habitudes hygiéno-vestimentaires par le port des sous-vêtements synthétiques et la toilette intime fréquente.

Par contre l'antibiothérapie, la contraception orale et mécanique, le cancer ne semblaient pas être des facteurs favorisants.

Des recommandations pour la prise en charge de la candidose vulvo-vaginale sont instaurées afin d'éviter les récidives. Elles comprennent un traitement local et/ou général, selon la situation qui se présente, ainsi que l'amélioration des règles hygiéno-vestimentaires, associée à une hygiène sexuelle.

Selon Nekkache et al., (2015) la candidose vulvo-vaginale est principalement causée par *C. albicans* (58%); ensuite *C. dubliniensis*, *C. glabrata* et *C. lusitaniae* à fréquence égale (14%).

El Alami et al., (2011) ont rapporté que les espèces des levures les plus fréquemment Isolées sont *Candida albicans* (69,2 %) suivi de *C. glabrata* et *C. tropicalis* à fréquence égale

(15,5 %). Ceci a été confirmé par *Anane* et al., (2010) qui ont isolé sur 515 cas positif *C. albicans*.

L'incidence de *Candida albicans* dans la candidose vulvo-vaginale (CVV) était largement rapportée et discutée; Il semble que le facteur favorisant sa survenue est principalement la grossesse.

Cette incidence importante de la CVV durant la grossesse est due à l'augmentation des taux des hormones de reproduction, notamment les œstrogènes, qui fournissent une excellente source de carbone pour la croissance du *Candida Sp* (Anane et *al.*, 2010).

Certaines études rapportent que l'utilisation des antibiotiques favorise la survenue d'une CVV. En effet, la prise de ces médicaments perturbe la flore vaginale normale en diminuant les lactobacilles, ce qui favoris e la colonisation par les levures du genre *Candida* (Anane et *al.*, 2010).

Plusieurs travaux ont montré que l'utilisation des contraceptifs oraux ostrogéniques augmente la fréquence de la CVV. Cela est expliqué par l'augmentation de la croissance et de l'adhésion du *Candida* à l'épithélium vaginal provoquée par l'æstrogène (Anane et *al.*, 2010).

Selon **Anane et al.**, (2010), pour les pilules fortement dosées, le risque de la CVV est beaucoup plus important et les femmes portant des vêtements serrés sont plus susceptibles à développer une CVV et ainsi l'élévation de la chaleur et de l'humidité du vagin contribuerait à la croissance des levures.

Enfin en revenant à nos résultats, dans tous les prélèvements effectués on a trouvé que 10% des patientes qui ne présentent aucun agent pathogène dans leurs pertes vaginales.

Ainsi l'effectif de 90% patientes représente des agents pathogènes dans leurs PV, ce là est un indice qui nous permet de confirmer que tout femme enceinte est exposée aux infections Vaginales ; Il faut donc dépister et si possible éliminer les causes favorisantes.

Conclusion

La grossesse représente un facteur de risque important de déséquilibre de la flore vaginale. Compte tenu des changements hormonaux de la diminution des défenses immunitaire, il est plus facile de contracter ou de développer une infection vaginale, il est impératif de consulter un gynécologue lorsque les pertes de flux sont importantes, changement de couleur ou sont malodorantes.

Ce genre de problématique peut être très dangereux pour la mère et le bébé puisqu'ils peuvent provoquer un accouchement prématuré ou de graves problèmes de santé chez le bébé.

Les données précédentes nous ont poussées à la présente étude évaluée « Les infections vaginales chez les femmes enceintes avant l'accouchement dans la maternité de « Aourai Zohra-Tiaret »

Notre problématique de recherche était axée sur trois questions à l'occurrence :

- Quel est l'impact des Infections Vaginales sur la santé des femmes enceintes ?
- Quelles sont les principales causes ?
- Quelles sont les moyens de lutte contre ses Infections ?

Eu égard à ce qui précède, nous avons constaté que les infections vaginales existent chez les femmes enceintes soit symptomatique ou pas et que ces femmes sont inconscientes aux risques de ces infections.

Au cours de notre travail, on a remarqué qu'aucun effort ni sensibilisation n'est fourni pour éviter ces infections ou limiter leurs dégâts.

Cependant il faut mentionner que nos résultats confirment qu'aucun traitement antimicrobien n'a été pris par les patientes et que tous les signes indiquaient l'atteinte par une infection vaginale dont on a eu un taux élevé de résultats positifs de 90%.

Enfin la prévention et les contrôles réguliers restent donc, les meilleurs moyens de lutte contre les infections vaginales surtout s'ils sont soutenus par des compagnes de sensibilisation.

Pour une meilleure prise en charge des systèmes vaginales il faut :

- 1. Isolement et identification des germes responsables des infections vaginales chez les femmes enceintes dans les différents stades de la grossesse.
- 2. Etude épidémiologique des infections nosocomiales des maternités au niveau national.

Références bibliographiques

- ❖ ALAIN B., CORINNE A., MICHEL R. (2000). Maladies infectieuses courantes à transmission materno-fœtale. Ed. Doin, Paris, pp219-220.
- ❖ ANANE S., KALLEL K., KAOUECH E., BELHAJ S et CHAKER E. (2007). Candida dubliniensis: une nouvelle espèce émergente. Ann Biol Clin.: 65(1):9-13.
- * ANANE S., KAOUECH E., ZOUARI B., BELHAJ S., KALLEL K et E CHAKER H. (2010). Les candidoses vulvo-vaginales : facteurs de risque et particularités cliniques et mycologiques. Journal de mycologie médicale : 20 :36-41
- ❖ AOAC, (2002). Official Methods of Analysis.17^{eme} Ed. Gaithersburg, USA.pp25-42.
- ❖ API :http://apiweb.biomerieux.cpm/sevlet/Authenticité?action=preparelogin.
- ❖ BERREBI A, AYOUBI J.M, (1999) Le déséquilibre de la flore vaginale, Genesis, 44:1-4.
- ❖ BONALA E. (2014). Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/ enfant, traitement et conseils. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard de Faculté de pharmacie, Lyon, p24.
- ❖ CARDINALE V. (2001). Les candidoses vaginales récidivantes à *Candida albicans*. Thèse de doctorat, Université Henri poincare. Nancy, pp17-18.
- CNGOF, (2010). Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, nationale des Item 88 : Infections génitales de la femme Leucorrhées. p03.
- ❖ DELCROIX M., CHERONT C., (1994) Les infections vaginales. Infections gynécologiques. Ed. Masson .France, pp164-179
- ❖ **DELLARAS C.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Ed. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. pp33-65- 101-129.
- ❖ DEVELOUX M, BRETANE S., (2005) Candidoses et levuroses diverses. EMC-Maladies Infectieuses. Paris ; 02 : 119-139
- ❖ El ALAMI S., HANDOR N., MOUTAKI ALLAH Y., NAOUI H., BOUCHRIK M., BOULAHYA A et LMIMOUNI B. (2011), La candidose vulvo-vaginale, Service de parasitologie et mycologie médicale, Hôpital militaire d'instruction .Mohammed-V, Maroc. p108.
- ❖ JAMILI H. (2010). La candidose vulvo-vaginale chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat : Etude prospective 2009-2010. Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat.p63.

- ❖ J. LANSAC, (2006). Collège National Des Gynécologues et Obstréciens Français, Extrait des Mises à jour en Gynécologie et obstétrique − Tome XXX, p6-7.
- ❖ JULIE VAN S., VANCOUVER M., MARK H., YUDIN M., TORONTO O. (2015). Vulvovaginite : Dépistage et prise en charge de la trichomonas, de la candidose vulvovaginite et de la vaginose bactérienne. Directive clinique de la sogc, Columbia ; 320 : 3-7.
- ❖ **KEIT A.** (2009). Etude épidémiologique et clinique de la vaginose au centre Hospitalier universitaire du point G. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali, p22.
- ❖ LARPENT, J.P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2^{éme} Ed. Masson, Paris, p512.
- ❖ LEPARGENEUR JP, ROUSSEAU V. (2002). Protective role of the Doderlein flora. J Gynecol Obstet Biol Reprod: 4:85-94.
- ❖ LEVESQUE S. (2011). Soin préventifs et de santé .Institut national de santé publique, Québec, p19.
- LUNARDO M.C., MUZARD G., GUERIN V., DELANCE V., (1999) Caractéristiques pharmacocinétiques d'un nouvel antifongique imidazolé : le nitrate de sertaconazole. Jour. Mycol. Med. : 09 :137-142.
- ❖ MARCHAL, L., Bourdon, J.L., Richard, C. (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. Paris, p482.
- ❖ MIKE BOIVIN B (2010). Les infections vaginales .Rapport de recherche. Le programme national de formation continue des assistants techniques en pharmacie. Canada, p26.
- * NGABA G., ESSOMBA E., KEDY KOUM C., NDZENGUE L., BIKA C., ADIOGO
- **D.** (2014). Profil des germes impliqués dans les infections cervico-vaginales chez la femme en âge de procréer à l'hôpital de district de Bonassama. Médecine et pharmacie : 4 :1-3.
- ❖ NEKKACHA S, ACHOURI S, REGUIG F. (2015). Les Mycoses. Mémoire de master en génétique publiée, Université des Frères Mentouri, Constantine. pp16-32.
- ❖ ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. (2005). Les infections sexuellement transmissible et autres infections de l'appareil reproducteur. Ed. Département de la santé et de la recherche génétique, Canada, pp43-46.
- ❖ PRUDHOMME C., JEANMOUGIN C., BASTIAN D. (2007). Gynécologie obstétrique. Ed. Maloine, Paris, p07.
- ❖ RICHARD BONNET, (2014) Service Bactériologie. Centre National Antibiogramme /CMI: techniques phénotypiques irremplaçables. Geophylogénie des K. pneumoniae oxa-48 in France in 2014. Detection of antibiotic resistance genes by WGS.p187

- * RONALD AR, ALFA MJ. (1996). Medical Microbiology; Microbiology of the
- Genitourinary System. Ed n° 4, p. 97
- **RUBIN M. (1993).** Les maladies sexuellement transmissibles. Ed. Albin Michel.S.A, Paris, pp. 24-127.
- ❖ SAIZOUNOU J., OUEDRAGO L., PARAISO M., AYELO P., KPZEHOUEN A., DARATE R., TRAORE E. (2014). Epidémiologie per partumala maternité du centre hospitalier département de l'Oueme-plateau au bénin. The pan African médical Journal, Bénin, p2.
- ❖ TCHELOUGOU D. (2012). Contribution à l'amélioration de la santé maternelle et néonatale au Togo : Cas des infections vaginales chez les femmes enceintes venues consulté au CHR de Sokode. Mémoire d'ingéniorat, Ecole supérieure des techniques biologiques et alimentaire, Togo, pp. 9-11.
- **❖ TCHELOUGOU D., KAROU D., KPOSTRA A., ASSIH M., BANOKEKATAWA G., ANANIK., SIMPORE J., DESOUZA C. (2013).** Infections vaginales chez les femmes enceintes au centre hospitalier régional de Sokodé (Togo) entre 2010et 2011.Ed N°.Médecine et Santé Tropicale. 23(1):51-52.
- ❖ VAN ROYEN P., FOULON V., TENCY I., VANDEVORDE J. (2016). Problèmes vulvo-vaginaux chez les femmes attentes de vulvovaginites et de vaginose dans la phase de vie reproductive. Rapport de recherche. Ed. EBM Pratice Net. Belgique, p9.
- ❖ VAUBOURDOLLE M. (2013). Infectiologie. Ed. Wolters Kluwer SA, Italie, pp. 367-368.
- ❖ VAZQUEZ JA, SOBEL JD. (2002). Mucosal candidiasis. Infect Dis Clin North Am; 16:793-820.
- ♦ https://microbiologiemedicale.fr; anatomie de l'appareil génital féminin consulte le 20 avril 2017à 10h.

Annexe $N^{\circ}01$: Composition des milieux de cultures (g/l) selon Larpent (1990)

➤ Gélose nutritive

	Extrait de levure	
	Extrait de viande01	
	Peptone	
	Nacl05	
	Agar15	
>	Bouillon nutritif	
	Peptone pancréatique d'organe10	
	Extrait de viande10	
	Chlorure de sodium05	
	Agar20	
>	Chapman	
	Peptone	
	Extrait de vaiande01	
	Na cl75	
	Mannitol10	
	Rouge de phénol0.02	5
	Agar	
>	Hektoen	
	Peptone12	
	Extrait de levure03	
	Nacl05	
	Sels biliaires09	
	Thiosulfate de sodium05	
	Citrate de fer ammonical	
	Lactose12	
	Salicine02	
	Saccharose	
	Fuchsine0.1	
	Agar14	

Annexes

	Muller Hinton
	Infusion de viande de bœuf300
	Peptone de caséine17.5
	Amidon de mais1.5
	Agar17
>	TSI
	Tryptone14
	Extrait autolytique de levure03
	Extrait de viande03
	Glucose01
	Lactose10
	Saccharose10
	Chlorure de sodium05
	Thiosulfate de sodium0.3
	Citrate ferrique ammoniacal0.3
	Rouge de phénol24
	Agar13.5
>	Mannitol mobilité
	Hydrolysattrypsique de caséine10
	Mannitol7.5
	Rouge de phénol0.4
	Nitrate de potassium01
	Agar3.5
	> Sabouraud
	Peptone pepsique de viande10
	Peptone enzymatique de caséine10
	Glucose:35
	Agar agar15.
	pH du milieu prêt à l'emploi à 25° C : 5.7 ± 0.2 (Biokar) et 5.6 ± 0.2 (Difco)

Annexes

> SS

Extrait de viande de boeuf	5
Polypeptone	5
Sels biliaires	8,5
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate ferrique	1
Citrate de sodium	10
Lactose	10
Vert brillant	0,00033
Rouge neutre	0,025
Agar	13,5
pH final $= 7.0$	

Annexe N°03: Résultat d'examen cyto-bactériologique des prélèvements vaginales du 21^{ème}prélèvement effectué au laboratoire d'analyses médicales de Dr A. BOUZIANE.



Tiaret, le 05 mars 2018

Nom : ELGUENDOUZI

Prénom: RAMLIA : 25 an(s) Age

Date prélèvement :

28/02/2018 09:19

Analyses demandées par :

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES LEUCORRHEES

Valeurs usuelles Anterioritées Examen Cytologique après coloration : (GRAM) - Cellules epitheliales Nombreux - Polynucleaires - Hematies - Trichomonas vaginalis - Levures Absence - Clue Cells (cellules indicatrices) - Flore de DODERLEIN (Lactobacilles) Peu abondante 2 - Type de flore : Type 1 : Predominance de lactobacilles. Type 2 : Lactobacilles presents mais flore de substitution sans morphologie predominante Type 3: Lactobacilles rares avec un type morphologique predominant. Type 4 : Flore totalement substituée. Examen Bactériologique : - Culture après enrichissement sur milieu BGT : **Positive** Négative - Culture sur milieu Sabouraud : Bacille Gram Négatif - Recherche de germes : Conclusion : Après identification biochimique et chromogénique le germe identifié est une Enterobacterie Espèce Escherichia coli 1 DR A BOUZIANE Medecin Biologiste Diplômé de la Faquité de Médecine Paris V Agrément Ministériel n° : 78 Tél/Fax 046 222 424 Adresse : Cité Mohamed Djahlane (AVENIR) Tiaret - Tél/Fax : 046.22.24.24

Email: labo.bouziane @yahoo.fr

Annexe N°04 : Résultat de l'antibiogramme des PV du 21^{ème} prélèvement effectué au laboratoire d'analyses médicales de Dr A. BOUZIANE



Laboratoire d'Analyses Médicales

Dr A. BOUZIANE Médecin Biologiste Diplômé de la Faculté de PARIS V Agrément Ministériel N° 78

Tiaret, le 05 mars 2018

Anterioritées

Nom : ELGUENDOUZI

Prénom: RAMLIA : 25 an(s)

28/02/2018 09:19 Date prélèvement :

Valeurs usuelles

ANTIBIOGRAMME

Entérobacteries

Amoxilline + Ac Clavulanique AUGMENTIN

Ampicilline

Amikacine

Cefalexine Cefazoline Cefexime Cefotaxime Imigénème Gentamycine

Analyses demandées par :

Sulfamethoxazol + Trimethoprime (Bactrim)

Colistine Ofloxacine Nitroxoline (Nibial) Chloramphenicol Ceftazidime Ticarcilline Tobramycine

Piperacilline Pefloxacine Ac nalidixique Sulfamethoxazol Sensible

Intermédiaire Sensible Sensible Sensible Sensible Sensible

Sensible

Intermédiaire

Sensible Sensible Sensible intermédiaire

Sensible

Sensible Sensible Sensible Sensible

> DR.A.BOUZIANE Médecin Biologiste Diplômé de la Faculté de Médecine Paris V Agrément Ministériel nº : 78 Tél/Fax 046 222 424

Adresse : Cité Mohamed Djahlane (AVENIR) Tiaret - Tél/Fax : 046.22.24.24 Email: labo.bouziane @yahoo.fr

Annexe $N^{\circ}05$: Distribution des germes et taux d'infections

Tableau N°16: Distribution des germes et des taux d'infection en fonction de l'âge, du stade évolutif de la grossesse et du nombre d'enfants (**Tchelougou et** *al.*, **2013**)

		A	ge			Terme de la grossesse			Nombre d'enfants				
	15 à 20	20 à 30	30 à 40	40 à 44	р	1 ^{er} Trim	2 ^{éme} Trim	3 ^{éme} Trim	P	Nulli	Primi	Multi	р
Nombre de patientes	16	171	72	6		88	107	74		113	68	92	
G. vaginalis	62,50	57,89	52,78	50,00	0,83	53,41	57,00	56,76	0,86	58,41	55,88	51,08	0,57
Candida sp	25,00	29,24	38,89	33,33	0,46	31,82	28,97	31,08	0,90	30,97	33,82	28,26	0,75
S. aureus	_	5,26	1,39	16,67	_	5,68	7,48	2,70	0,38	4,43	2,94	8,70	0,23
T. vaginalis	12,50	4,09		_	_	4,55	3,74	2,70	0,82	3,54	4,41	3,26	0,92
Entérobactéries	_	4,09	6,94	I	_	3,41	2,80	6,76	0,38	2,65	2,94	7,61	0,18
Mobiluncusspp	-	0,58	ı	ı	-	1,14	_	_	-	-	-	1,09	1
Taux d'infection	70,59	75,44	70,83	80,00	0,78	73,08	75,22	70,73	0,79	73,98	72,15	73,00	0,93
Taux de Co-infection	33,33	22,22	20,83	25,00	0,74	14,47	25,88	29,31	0,05	24,17	19,30	24,66	0,65

> Trim: trimestre

> Nulli: nullipare, Primi: primipare, Multi: multipare

➤ (-): non détecté

Tableau N°17 : Distribution des germes identifiés dans les prélèvements vaginales des femmes enceintes au CHR de Sokodé (**Tchelougou et** *al.*, **2013**)

Germes	Effectif	Pourcentage (%)
Gardnerellavaginalis	151	55,31
Candida sp	84	30,77
Staphylococcus aureus	15	5,49
Trichomonas vaginalis	10	3,66
Entérobactéries	12	4,40
Totale	273	100

Annexe $N^{\circ}06$: Interprétation des Résultats d'API

Tableau N°18 : Interprétation des résultats des galeries API 20E

Code de la bactérie	Taxons Significatif(s)	ID	T	Test(s) à l'encontre					
				ADH 1	URE 3	IND 89	SOR 91		
	Ecoli 1			MEL 75	ARA 99	/	/		
7114130	E coli 2			ADH 1	ODC 20	URE 1	SAC3		
	Afniaalvei 2			ADH 0	URE 1	RHA 1	SAC 1		
	Taxons Significatif(s)	ID	Т	Test(s)à l'encontre					
	Klebseillapneumonaesppozaenae		0.63	ADH 18	SAC 20	ARA 85	/		
		72.1		MEL 75	ARA 99	/	/		
	Pantoeaspp1	26.7	0.49	ADH 1	/	/	/		
1200 17 51	Enterobactercloacae	0.6	0.15	ODC 92	CIT 90	VP 85	RHA 85		
13004561	Test complementaire (s)	MOB	ADONOTOLAC	JAUNE	MD Gac				
	Klebseillapneumonaesppozaenae	0	97	0	70	/	/		
	Pantoea spp1	85	7	76	7				
	Erwiniaspp	85	-(+)	-(+)	-(+)	-(+)	-+)		
7106733	Taxons Significatif(s)	ID	T	Test(s)a l'encontre					
	Serratialiquefaciens	98.8	0.21	ADH 1	CIT 80	RHA 2	/		
				MEL 75	ARA 99	/	/		
7106733	Serratiaodorifera 1	0.5	90	ADH 0	CIT 95	IND 99	MEL 99		
	Taxons Significatif(s)	ID	T	Test(s)a l'encontre					
	E. coli 1	50.1	0.41	IND 89	INO 1	MEL 75	/		
	Serratiafonticola	28.2	0.29	CIT 75	MEL 99	AMY 99	/		
	Enterobacteraerogenes	14.1	0.2	CIT 82	VP 85	MEL 99	AM Y 99		
	Serratialiquefaciens	5.2	0.26	CIT 80	RHA 2	AMY 97	/		
5104732	Klebseillaterrigena	0.9	0.05	ODC 6	VP 75	MEL 100	AM Y 100		
	Test complementaire (s)	ADONI TLac	CELac	MDGac	DNASa	/	/		
	Enterobacteraerogenes	98	100	94	0	/	/		
	E coli	4	2	0	0	/	/		
	Serratiaodorifera 1	100	6	91	0	/	/		
	Serratialiquefaciens	6	6	6	85	/	/		

Tableau N°19: Interprétation des Résultats des échantillons d'API 20 NE

Code de bactérie	Taxons Significatif(s)	ID	Т	Test(s)a l'encontre					
	Photobacteriumdamsela			GEL 0	PNPG 11	ARAa 0	OX 100		
				MEL 75	ARA 99	ARAa 1	OX 84		
5331000	Pasteurillapneumotropica			ADH 0	GEL 0	URE 1	SAC 3		
	Pasteurillaspp			GLU 2	ADH 2	URE 1	GEL 1		
				PNPG 4	ARAa 1	OX 87	/		
	Taxons Significatif(s)	ID	Т		Test(s)a l'encontre				
	Pasteurillapneumotropica			ADH 0	GEL 0	ARAa 1	OX 84		
1331000				MEL 75	ARA 99	/	/		
1331000	Pantoea spp1	26.7	0.49	ADH 1	/	/	/		
	Enterobactercloacae	0.6	0.15	ODC 92	CIT 90	VP 85	RHA 85		
	Test complementaire (s)	MOB	ADONOTOLAC	JAUNE	MD Gac				
	Klebseillapneumonaesppozaenae	0	97	0	70	/	/		
	Pantoea spp1	85	7	76	7				
	Chryseobacteriumindologens	/	/	NO3 20	TRP 81	ADH 0	ESC 98		
				PNPG 22	ARAa 12	OX 99	/		

Annexe N°07: Coloration de Gram

> Technique

La coloration au violet de Gentiane (colorant basique): la lame est plongée pendant 2 à 3

minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les

bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.

Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ;

Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.

Décoloration à l'alcool : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée

obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la

décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La

coloration au violet de Gentiane disparait. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si

l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine : laisser agir de 30 secondes à 1

minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à

40°C, 10 à 15 minutes. Les bactéries Gram- sont colorées en rose(**Dellaras**, 2007).

Annexe N°08 : Technique d'antibiogramme

1. Préparation de la suspension bactérienne

A l'aide d'une anse de platine stérilisée on prend des colonies isolées de la boite de Pétri qui contient la souche bactérienne et on a les déposé dans des tubes de BN, puis on les incubeà 37°C/18h.

2. Coulage

- Couler le milieu de culture MH (Miller Hinton) dans des boites de Pétri.
- Laisser prendre en masse.

3. Réglage de la concentration

- Couler la gélose dans une boite de Pétri
- Laisser prendre en masse
- On prend un spectrophotomètre et on la règle à une longueur d'onde de 625nm
- On prend deux tubes à essai l'un contient la suspension bactérienne pure et l'autre diluée par le BN
- On remplit la cuve de spectre par la suspension bactérienne diluée pour régler sa concentration qui doit être dans l'intervalle de (0.08-0.13). (si on la trouve supérieure à 0.13 on ajoute le BN propre et si elle est inférieure de 0.08 on ajoute la suspension bactérienne) jusqu'à l'obtention d'une bonne concentration.

4. Ensemencement

- Prélever 2 ou 3 gouttes de la suspension bactrienne de concentration réglé, les déposer à la surface de la gélose et les étaler avec un râteau.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée (10 à 15mn).
- déposer les disques de celluloses imprégnées d'antibiotique (Céfalotine, Rifampin, Gentamicin, Ampicilin, Erythromycine, Doxyciline, Polymixin, Oxaciline, Amoxycilin, Erythromycilin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Lincomicin, Cephalexin) correspondant à l'aide des distributeurs ou à la pince en appuyant légèrement.
- Placer la boite de Pétri à basse température +4°C pendant 15 à 30mn afin de permettre aux antibiotiques de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier.

5. Incubation

• Retirer les boites du réfrigérateur et les placer dans l'incubateur, à la température optimale de la croissance du germe à étudier (37°C/24) (**Dellaras,2007**).

Annexe N°09: Technique d'identification microbienne commerciale API

1. Inoculation de la bande API:

Inoculer la suspension bactérienne dans chacun des puits avec une micro pipette Remplir le tube et la section de la cupule des tubes [CIT], [VP] et [GEL]. Remplir complètement la section de la cupule du micro tubes ADH, LDC, ODC, H_2S et

2. Incubation de la bande API dans sa chambre

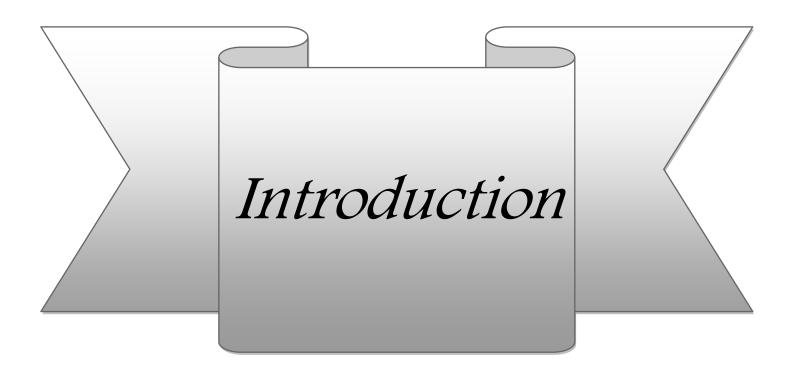
URE avec de l'huile de paraffine.

Remplir le bas de la chambre avec juste assez d'eau distillée pour remplir les indentations.

Placer la bande dans ce réservoir du bas.

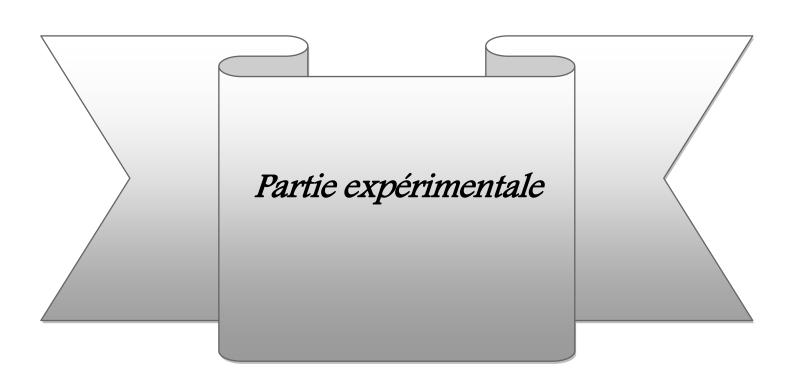
Placer le dessus de la chambre d'incubation sur le bas et en la étiquetée et la déposer dans

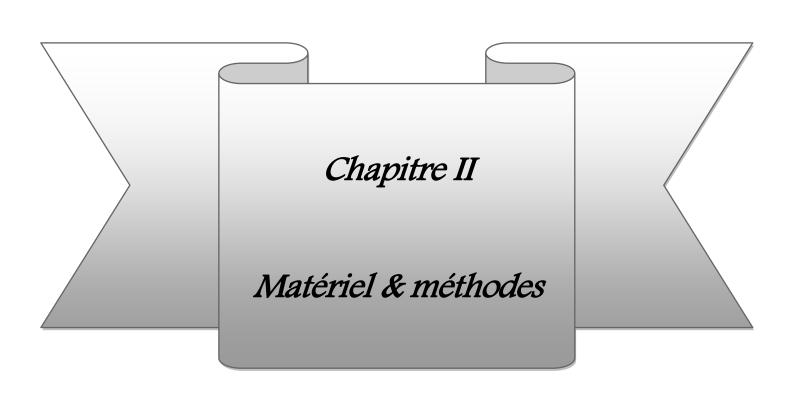
l'incubateur dans une température de 37°C/24h (Marchal et al., 1982)

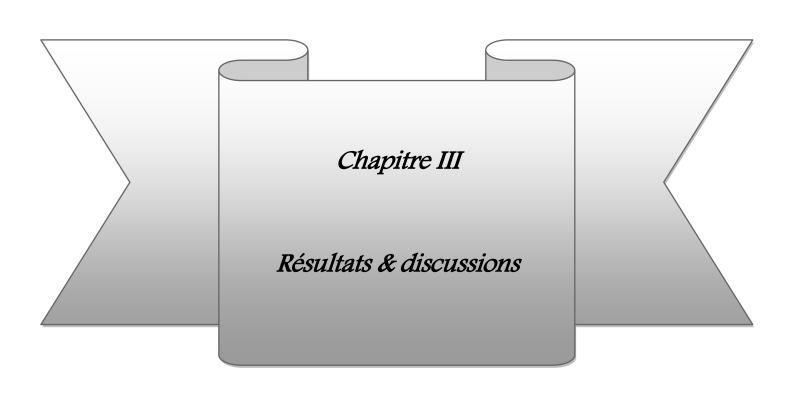


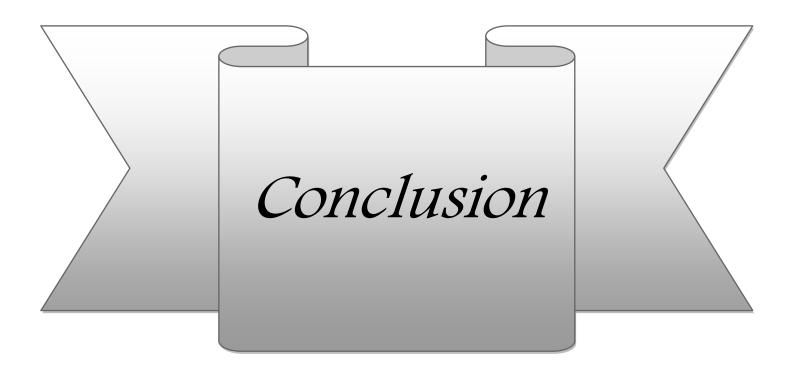


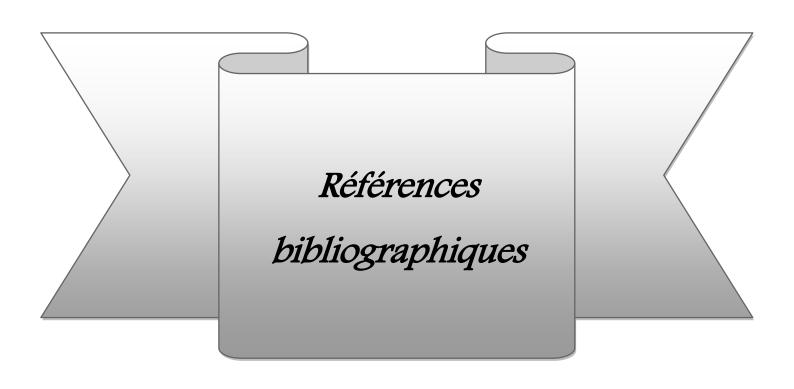


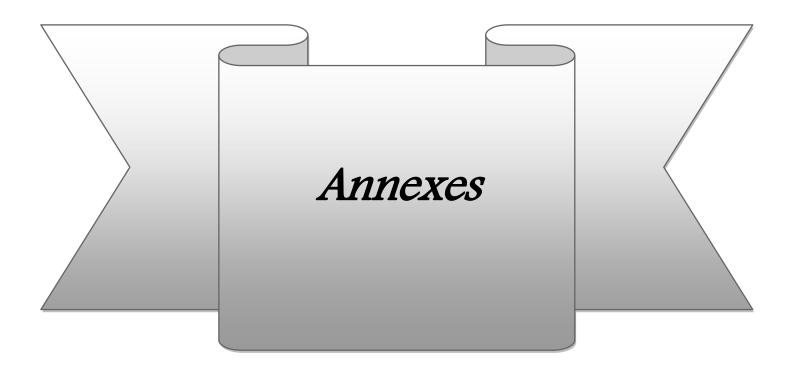












Résumé

Les infections vaginales relèvent d'une altération de l'écosystème vaginal qui est associé à trois principaux types : vulvo-vaginite a *Candida*, vaginose bactérienne, vulvovaginite à *Trichomonas* ; ces dernières peuvent être symptomatiques par la présence d'un écoulement vaginal anormal (Leucorrhée) ou asymptomatiques.

Les infections vaginales peuvent être provoquées par des bactéries, des levures et d'autres microorganismes, elles sont plus fréquentes chez les femmes enceintes à cause de trois principaux facteurs qui sont l'affaiblissement des défenses dans l'organisme, l'augmentation de la taille de l'utérus et de la rétention de liquides.

Au cours de la grossesse, la richesse en glycogène de l'épithélium vaginal s'accroît considérablement. Celà entraîne une augmentation de l'acide lactique et donc par conséquent une augmentation de l'acidité vaginale défavorable à la prolifération de différents agents infectieux.

Le diagnostic cytobactériologique de 20 prélèvements des pertes vaginales avant accouchement des femmes enceintes nous a permis d'identifier et d'impliquer plusieurs germes. 90% des résultats des examens cytobactériologiques étaient positifs et le germe le plus rencontré est *Candida sp* avec 50% suivi de *Staphylococcus sp* avec 35% et présence des entérobactéries dans 15% des échantillons (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*...)

Mots clés

Infection vaginale, Femmes enceintes, Leucorrhées, examen cytobactériologique, *Candida sp, Staphylococcus sp.*

ملخص

تنجم العدوى المهبلية عن تغيير النظام البيئي المهبلي المرتبط بثلاثة أنواع رئيسية، التهاب الفرج المهبلي ب: Candida التهاب الفرج البكتيري، التهاب الفرج المهبلي عن Trichomonas والتي قد تكون ذات أعراض من خلال وجود إفرازات مهبلية غير طبيعية أو بدون أعراض. يرجع سبب العدوى المهبلية لوجود البكتيريا، الخمائر والكائنات الدقيقة الأخرى، وهي أكثر شيوعًا عند النساء الحوامل بسبب ثلاثة عوامل رئيسية: ضعف المناعة في الجسم، زيادة حجم الرحم وزيادة احتباس السوائل.

خلال فترة الحمل، يزيد وجود الغليكوجين للبطانة المهبلية بشكل كبير مما يؤدي إلى زيادة في حامض اللبنيك وبالتالي زيادة في الحموضة المهبلية الغير ملائمة لانتشار العوامل المعدية المختلفة.

سمح التشخيص الخلوي البكتيري: ل20 عينة للإفرازات المهبلية للنساء الحوامل بعزل و تشخيص عدة أنواع من الأحياء المجهرية Candida Sp هي أكثر جرثومة شيوعا بنسبة 50% تليها Staphylococcus sp بنسبة 35% ووجود عائلة البكتيريا المعوية (Escherichia coli, Klebsiellapneumoniae) بنسبة 15%

الكلمات الدالة

عدوى مهبلية، نساء الحوامل، إفرازات مهبلية، الفحص الخلوي البكتيري, Candida Sp, Staphylococcus Sp