

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB de BLIDA
Faculté de sciences Agrovétérinaires et Biologiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie
Option : Microbiologie-Bactériologie

Thème :

Dépistage et antibiothérapie de *Streptococcus agalactiae*
chez les femmes enceintes et suivie des nouveaux nés

Présenté par

DJELLELI Hiba

Soutenu le : 16/12/2013

Devant le jury

-M ^{me} MED. MAHMOUDI F	Maitre Assistant A à l'USDB	Présidente
-M ^r HAMAIDI M.S	Maitre de conférences A à l'USDB	Examineur
-M ^{me} CHERRALLAH A	Maitre Assistant A à l'USDB	Examinatrice
-M ^{me} DEBIB A	Maitre Assistant A à l'USDB	Promotrice
-D ^r YEDDOU R	Maitre Assistant Hospitalo-Universitaire à l'EPH de Ziralda	Copromoteur

Année universitaire 2012-2013

Remerciements

✧ Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à... ✧

AU BON Dieu Tout puissant

*Qui m'a inspiré... Qui ma guidé dans le bon chemin... Je vous dois ce que je suis devenue
Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.*

A tous mes maîtres depuis les 5 années

*Aucun mot ne saurait décrire ma gratitude. Vous constituez pour moi et pour tous les étudiants le
symbole du respect, de la responsabilité. Veuillez trouver, chers maîtres, dans ceci le témoignage de ma
profonde gratitude et de ma sincère reconnaissance.*

A ma promotrice Docteur DEBIB .A

*Vous me faites un grand honneur d'avoir accepté de diriger ce travail.
Je vous remercie de m'avoir guidé dans ce travail avec bienveillance.*

A ceux qui ont offert leur collaboration pour juger ce travail

Veuillez trouver ici l'expression de notre estime et notre considération.

Au chef service de laboratoire centrale d'EPH de Ziralda Dr YEDDOU. R

*Je vous remercie de m'avoir accepté dans votre laboratoire et de m'avoir guidé dans ce travail avec
rigueur et bienveillance.*

A tous les membres de l'EPH de Ziralda, en particulier les membres d'unité de bactériologie.

***A toutes les gynécologues et les sages femmes du service de maternité, service de gynéco-obstétrique, et
de salle d'accouchement.***

A tous les pédiatres du service de pédiatrie de l'hôpital de Ziralda.

***Au directeur de la station expérimentale et chef service de département de vétérinaire Dr BEN
DJELLAL Adel :***

Merci monsieur de m'approvisionner à chaque fois du sang de mouton avec toute bienveillance.

***A monsieur HELLAL Sid Ahmed (infirmier dans l'institut pasteur d'Alger) et la responsable de la
pharmacie de l'institut pasteur d'Alger***

*Merci de m'approvisionner d'une quantité des enzymes d'extraction, des sérums d'agglutination, et
des écouvillons.*

A docteur AIT AMIR. A (épidémiologue dans l'EPH de ZIRALDA).

Merci pour votre aide dans ma partie statistique avec bienveillance.

A mon fiancé Ali :

*Merci pour votre reconduite et votre assistance persistante dans la recherche des écouvillons, les
sérums et les enzymes, le sang de mouton... et pour votre encouragement tout au long de mon travail.*

***Aucun mot ne saurait décrire ma gratitude et ma profonde reconnaissance pour tous les sacrifices que
vous avez consentis à mon égard***

Merci..... Que Dieu vous protège

Dédicace

✿ Je dédie ce mémoire à ... ✍

A mes très chers parents

Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Aucun mot ne saurait décrire ma gratitude et ma profonde reconnaissance pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard, pour tous vos encouragements tout au long de mes années d'étude et pour la confiance que vous avez en moi. Rien au monde ne pourrait compenser tout ce que vous avez fait pour moi.

*Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de mon grand amour
Que dieu vous accorde, santé, bonheur et prospérité.*

A mon fiancé Ali

Tu as été toujours là pour moi... Tu représentes pour moi la bonté par excellence... Tendresse et l'exemple même du dévouement.

Je te dédie ce travail en expression de ma gratitude et de ma profonde affection.

A mes très chères sœurs : Fouzia et sa petite fille « Salsabil » ; Ahlem ; Nabila.

J'espère que vous trouverez dans ce travail l'expression de ma grande estime et ma profonde affection. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès.

A mes chers frères : Noureddine; Salim ; Fares.

Je suis fier d'avoir des frères comme vous... Veuillez retrouver en ce travail l'expression de mon amour, ma gratitude et mon grand attachement.

A mes futurs enfants

A mes grands parents

A mes tantes et mes oncles

A mes cousins et cousines

A toute ma grande famille

Si chère et si grande dans mon cœur.

*Merci pour tous les encouragements, et les conseils qui m'ont été d'une aide précieuse
J'espère que vous trouverez ici le témoignage de ma profonde affection... Que Dieu vous protège.*

A mes très chères amies et consœurs d'étude (Microbiolose)

Merci, chères amies pour ce joli parcours que nous avons réalisé ensemble.

Je saisis cette occasion pour vous exprimer mon profond respect et vous souhaiter le bonheur, la joie et tout le succès du monde.

A tous ceux et celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail Je cite particulièrement le chef service et tous les membres du laboratoire central d'EPH de Ziralda.

Sommaire

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Le tractus génital féminin.....	02
I.2 Rappel sur la flore vaginale.....	03
I.2.1 Classification de la flore vaginale.....	04
I.2.2 Classification des microorganismes selon le pouvoir pathogène.....	04
I.2.3 La flore vaginale pendant la grossesse.....	05
I.3 Portage et infections par le streptocoque du groupe B « <i>Streptococcus agalactiae</i> »	05
I.3.1 <i>Streptococcus agalactiae</i> (SGB).....	05
I.3.1.1 Historique.....	05
I.3.1.2 Caractères bactériologiques.....	06
I.3.1.3 Caractères antigéniques.....	07
I.3.1.4 Pathogénie.....	08
I.3.1.5 Origine et habitat.....	09
I.4 Portage vaginal chez la femme enceinte.....	09
I.5 infections chez la femme enceinte.....	09
I.5.1 Infections gravidiques.....	09
I.5.2 Infections du postpartum.....	10
I.6 Modes de colonisation chez le nouveau né.....	10
I.7 Infections maternofoetales.....	11
I.7.1 Infection néonatale précoce.....	11
I.7.2 Infection néonatale tardive.....	12
I.7.3 Facteurs de risque de développement d'une infection maternofoetale.....	12
I.8 Diagnostic bactériologique	13
I.9 Traitement et prévention des infections maternofoetales.....	19
I.9.1 Antibioprophylaxie.....	20
I.9.2 Autres stratégies préventives.....	21
I.9.3 Antibiothérapie chez le nouveau né.....	22
Chapitre II : Matériel et méthodes :	
II.1 Matériel.....	23
II.1.2 Matériel biologique.....	23

II.1.3 Matériel non biologique.....	23
II. 2 Méthodes	24
II.2.1 Techniques de prélèvements	24
II.2.2 Examen cyto bactériologique des pvts	26
II.2.2.1 Examen direct des prélèvements	26
II.2.2.2 Culture	27
II.2.3 Tests d'identification de SGB.....	27
II.2.3.1 Identification macroscopique	28
II.2.3.2 Identification microscopique	29
II.2.3.3 Identification biochimique.....	30
II.2.3.4 Identification sérologique.....	31
II.2.3.4.1 Sérogroupage de streptocoques β hémolytique.....	31
II.2.3.4.2 Camp-test.....	32
II.2.4. Antibiogramme.....	33
<i>Chapitre III : Résultats et discussion</i>	
III.1 Résultats.....	35
III.2 Discussion.....	45
-Conclusion.....	51
-Recommandations et perspectives.....	52
-Références bibliographiques	
-Annexes	

Liste des figures

Figure 01 : Le pelvis féminin.....	03
Figure 02: La flore vaginale normale.....	04
Figure 03: Cocci gram positif regroupé en chaînettes.....	06
Figure 04: β hémolyse.....	07
Figure 05 : Mode de contamination maternofoetale.....	11
Figure 06: Zone d'hémolyse en forme de flèche.....	17
Figure 07: Réalisation d'une biopsie placentaire	25
Figure 08: Isolement des Souches par la méthode des quadrants	28
Figure 09: Coloration de Gram montrant des cocci à Gram positif de <i>Streptococcus agalactiae</i> dans une hémoculture de nouveau-né	30
Figure 10 : Fréquence des prélèvements vaginaux positifs.....	36
Figure 11 : Fréquence des prélèvements rectaux positifs	36
Figure 12 : Répartition en fonction du site du prélèvement	37
Figure 13 : Répartition des prélèvements vaginaux en fonction d'âge.....	37
Figure 14: Répartition des prélèvements vaginaux selon la gestité.	38
Figure 15: Répartition des prélèvements vaginaux selon la parité.....	39
Figure 16 : Répartition des prélèvements vaginaux selon le niveau d'étude.....	39
Figure 17 : Répartition des prélèvements vaginaux selon la profession.....	40
Figure 18 : Répartition des prélèvements vaginaux selon les antécédents médicaux.....	41
Figure19: Répartition des prélèvements vaginaux selon l'âge gestationnel.....	41
Figure 20: Répartition des prélèvements vaginaux selon les paramètres inhérents à la grossesse actuelle.....	42
Figure 21: Répartition des souches de SGB isolées selon la sensibilité et la résistance aux antibiotiques.....	44

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des micro-organismes des voies génitales féminines selon le pouvoir pathogène	05
Tableau II : Caractéristiques des infections à SGB	12
Tableau III : Caractéristiques des souches de <i>Streptococcus agalactiae</i> isolées.....	35
Tableau IV : Résultat des prélèvements périphériques.....	43
Tableau V : Résultat des hémocultures et des ponctions lombaires.....	44
Tableau VI : Résultat des signes cliniques.....	44

Liste des abréviations

AARN: Algerian Antimicrobial Resistance Network.

ADN : Acide DésoxyRiboNucléique.

ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation de Santé.

ARN : Acide RiboNucléique.

ATB : Antibiotique.

ATCD : Antécédents.

BGT : Bouillon Gélosé Tamponné.

CAMP : Christie-Atkins-Munch-Pertersen.

Cm : Centimètre.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

CRP : C Reactiv Protein

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

EOD: Early Onset Disease.

EPH: Etablissement Populo- Hospitalière.

GEU : Grossesse Extra-Utérine.

GR : Globules Rouges.

HAS : Haute Autorité de Santé.

IMF : Infection Materno-Fœtale.

LBM : Laboratoires de Biologie Médicale.

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien.

LOD: Late Onset Disease.

MAP: Menace d'Accouchement Prématuro.

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

NNés : Nouveaux-Nés

PCR : Polymerase Chain Reaction (reaction de polymerase en chaîne).

Ph : Potentiel d'Hydrogène.

PLP : Protéines de Liaison aux Pénicillines.

Pr : Professeur.

PR : Prélèvement Rectal.

PV : Prélèvement Vaginal.

Pvts : Prélèvements.

SA : Semaine d' Aménorrhée.

SGB : Streptocoque de Groupe B.

RPM : Rupture Prématuration des Membranes.

VIH : Virus d'Immuno - déficience Humaine.

Glossaire

Accouchement : ensemble des phénomènes (contractions utérines par exemple) qui aboutissent à l'expulsion du fœtus et du placenta, à la fin de la grossesse (Merlet, 2004).

Aménorrhée : absence de règles (Merlet, 2004).

Ante-partum : avant l'accouchement (Delamare, 2006).

Antibioprophylaxie : traitement préventif par les antibiotiques d'une éventuelle complication infectieuse ou bien d'une infection virale dans le but d'en éviter une surinfection bactérienne (Delamare, 2006).

Antibiothérapie : traitement par les antibiotiques (Merlet, 2004).

Antibiotique : une substance naturelle, produite surtout par les champignons inférieurs et par certaines bactéries, ou synthétique qui empêchent la croissance des bactéries ou les détruit (Merlet, 2004).

Bactériémie : présence de bactéries dans le sang, de courte durée et bénigne (Merlet, 2004).

Bactériurie : présence de bactéries en très grande quantité dans l'urine fraîchement émise, coïncidant ou non avec un processus inflammatoire des voies urinaires (Delamare, 2006).

Cellulite : inflammation grave du tissu sous-cutané, d'origine infectieuse (Merlet, 2004).

Chorioamniotite : une réaction inflammatoire aigüe des membranes et de la plaque choriale faite essentiellement des polynucléaires neutrophiles, plus rarement éosinophiles et de macrophages, son origine est mixte, à la fois maternelle surtout avant 20 semaines d'aménorrhées, à partir de la chambre intervillieuse et fœtale à partir des vaisseaux allanto-choriaux (Nessmann et Larrouche, 2001).

Colonisation : présence d'un germe pathogène dans un prélèvement périphérique sans signes cliniques ni biologiques (Baveux et al, 2008).

Cytochrome : substance protéique pigmentée des cellules vivantes, localisées dans les mitochondries et indispensable à la respiration cellulaire (Merlet, 2004).

Dysurie : difficulté à uriner (Merlet, 2004).

Endocardite : inflammation de l'endocarde (membrane qui tapisse la cavité du cœur) (Merlet, 2004).

Endométrite : inflammation de l'endomètre (muqueuse qui tapisse la cavité utérine) (Merlet, 2004).

Flore commensale : ensemble des espèces bactérienne commensales qui vivent sur la peau ou dans une cavité naturelle (Merlet, 2004).

Fausse couche : avortement spontané (Merlet, 2004).

Glaire cervicale : sécrétion blanchâtre et gluante, normale ou pathologique de la muqueuse du col utérin (Merlet, 2004).

Hémolysine : substance qui jouit de la propriété de détruire les globules rouges du sang, elle peut apparaître dans le sérum (anticorps) sous l'action de certains antigènes (Delamare, 2006).

Hypotrophie : retard de la croissance chez le nouveau-né ou le nourrisson (Merlet, 2004).

Infection gravidique : une infection qui est due à la grossesse ou se produit pendant la grossesse (Merlet, 2004).

Leucorrhée : écoulement blanc, jaune ou vert, dépourvu de sang, provenant des voies génitales de la femme (Merlet, 2004).

Liquide amniotique : liquide qui remplit la poche formée par l'amnios et dans lequel baigne l'embryon (Merlet, 2004).

Mastite : inflammation de la glande mammaire ; mammite (Merlet, 2004).

Méningite : inflammation des méninges, d'origine infectieuse, se traduisant par de la fièvre, une raideur de la nuque, des maux de tête et des vomissements (Merlet, 2004).

Mésentère : repli du péritoine reliant les anses de l'intestin grêle à la paroi postérieure de l'abdomen (Merlet, 2004).

Miction : action d'uriner (Merlet, 2004).

Nullipare : se dit d'une femme qui n'a jamais accouchée (Merlet, 2004).

Oestrogène : hormone sécrétée par l'ovaire, assurant la formation, le maintien et le fonctionnement des organes génitaux et des seins chez la femme (Merlet, 2004).

Ostéomyélite : infection d'un os (Merlet, 2004).

Ovocyte : cellule de la lignée germinale femelle des animaux, formée à partir d'une ovogonie et n'ayant pas encore achevé l'ovogenèse (Merlet, 2004).

Parturiente : femme qui accouche (Merlet, 2004).

Pelvis : partie inférieure du bassin (Merlet, 2004).

Périnatale : se dit de la période entre la fin de grossesse et les premiers jours de vie (Merlet, 2004).

Périnée : région du corps fermant en bas le petit bassin, traversée par la terminaison des voies urinaires, génitales et digestives (Merlet, 2004).

per-partum : au moment de l'accouchement (Delamare, 2006).

Pneumonie : (pneumopathie infectieuse) : infection des poumons, en particulière bactérienne ou virales (Merlet, 2004).

Pollakiurie : trouble caractérisé par des mictions fréquentes et peu abondantes (Merlet, 2004).

Post-partum : période qui suit immédiatement un accouchement (Merlet, 2004).

Prématurité : état d'un enfant prématuré (Merlet, 2004).

Prostaglandine : substance dérivée d'un acide gras, présente dans de nombreux tissus de l'organisme et qui intervient dans de nombreux processus biologiques (contraction de l'utérus, inflammation, coagulation du sang,...) (Merlet, 2004).

Puerpérale : relatif aux suites de couche, à la période qui suit l'accouchement (Merlet, 2004).

Purpura : éruption de taches rouges dues à de petites hémorragies cutanées, prenant différents aspects (Merlet, 2004).

Résistance acquise : implique la survenue au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible aux antibiotiques, d'une souche résistante (variant) qui va profère alors que les germes sensible sont détruits (Grunfeld, 1994).

Résistance naturelle : dans laquelle l'inactivation de l'antibiotique sur les micro-organismes est liée à la structure de celui-ci (Grunfeld, 1994).

Rupture prématurée des membranes : La rupture prématurée des membranes (RPM) se définit, quel que soit le terme de la grossesse, comme la rupture franche de l'amnios et du chorion se produisant avant le début du travail. Cette définition inclut les fissurations de la poche des eaux et exclut les ruptures en cours de travail (Audra et Pasquier, 2002).

Scarlatine : maladie infectieuse contagieuse de l'enfant compliquant une angine à streptocoque, caractérisée par une éruption cutanée généralisée de points rouges (Merlet, 2004).

Spéculum : instrument servant à élargir certaines cavités du corps (vagin) et à en faciliter l'examen (Merlet, 2004).

Septicémie : infection générale due à la dissémination de bactérie par voie sanguine (Merlet, 2004).

Streptolysine : hémolysine produite par le streptocoque bêta-hémolytique, il en existe 2 sortes : la streptolysine (libile à l'oxygène) et la streptolysine S (apparaissant dans les milieux de culture au sérum). Le premier seul se comporte comme antigène (Delamare, 2006).

Tractus : ensemble de fibres ou d'organes qui se font suite et forment une unité fonctionnelle (Merlet, 2004).

Travail : ensemble de phénomènes physiologiques qui conduisent à l'expulsion de l'enfant, lors de l'accouchement (Merlet, 2004).

Résumé

Le streptocoque du groupe B (SGB) ou *Streptococcus agalactiae* est une des principales bactéries responsables d'infections néonatales graves. Nous avons évalué la colonisation vaginale des femmes enceintes après 36 SA par le SGB durant la période de 10 Mars jusqu'au 29 Août 2013 dans l'EPH de ZERALDA, et essayé de dégager les facteurs de risque associés à ce portage ainsi que l'antibiorésistance et les particularités des souches isolées.

Une recherche de SGB a été réalisée chez 60 femmes enceintes par un prélèvement vaginal et autre rectal, et des renseignements concernant l'étude des facteurs de risque ont été consignés sur une fiche de renseignements. Nos résultats ont révélé que le taux de portage global est de 25 % avec un taux vaginal de 10 % et un taux rectal de 22 %.

33% des nouveaux-nés ont présenté une infection néonatale, ces infections qui en résulte en fait une pathologie nécessitant un dépistage et une antibioprophylaxie.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées, les études d'antibiogramme ont montré une sensibilité de haut niveau aux gentamycine, rifampicine, vancomycine et au pristnamycine chez 100 % des souches. Pour l'érythromycine, une sensibilité de haut niveau chez 83,33 % des souches et une résistance de bas niveau chez 16,67 % des souches.

Aucun des facteurs de risque étudié n'était statistiquement prédictif du portage maternel du SGB, peut-être à cause du nombre limité des femmes enceintes.

Mots clés

Streptococcus agalactiae -infections néonatales - facteurs de risque
prélèvement vaginal - dépistage

Summary

Streptococcus agalactiae or Group B Streptococcus (GBS) is one of the main bacterial causes of serious infections in newborns. We have evaluated the vaginal colonization of pregnant women by the GBS after 36 weeks of amenorrhoeas during the 10 March at 29 August 2013 in the hospital of ZIRALDA and we have tried to determine the risk factors of this colonization, the antibiorésistance and the particularities of the different isolated strains.

We have screened 60 pregnant women with vaginal and anal sample. 25% pregnant women are colonized by SGB, 10 % for the vaginal colonization and 22% for the anal colonization.

33% newborns bring an infection in newborns, this infection resulting there of is a pathology that necessitates detection and prevention.

On the antibiotic sensibility of the isolated strains, the antibiogram studies have shown a high level sensibility to gentamicin, rifampicin, vancomycin and pristinamycin in 100% of strains. For erythromycin, a high level sensibility in 83.33 % of strains and low-level resistance at 16.67 % of the strains.

Neither risk factor under study has not statistically caused maternal bearing of streptococcus B, perhaps because the number of pregnant women is limited.

Key words

Streptococcus agalactiae - risk factor
vaginal sample -rectal sample- detection

ملخص

تشكل البكتيريا العقدية ب العامل الرئيسي المسؤول عن الاصابة الخطيرة عند حديثي الولادة. لقد قمنا بدراسة لتقييم مدى حمل النساء الحوامل لهذه البكتيريا في المهبل ابتداء من الاسبوع 36 بعد انقطاع الطمث وهذا في مدة امتدت من 10 مارس الى 29 اوت من عام 2013 في المستشفى العمومي بزرالدة, كما حاولنا استخلاص العوامل التي تشجع على حمل هذه البكتيريا في المهبل, و درسنا خصائص هذه البكتيريا و مدى مقاومتها للمضادات الحيوية.

البحث عن البكتيريا العقدية ب كان مقتصرًا على 60 امرأة حامل وهذا بأخذ عينات من المهبل والشرح بشكل دقيق مرفقة باستجواب عن عدة عوامل من الممكن ان تكون السبب في غزو هذه البكتيريا للمهبل.

في دراستنا هذه, وصلت نسبة الإصابة الإجمالية إلى 25 في المائة, 10 في المائة بالنسبة للغزو المهبلية و 22 في المائة نسبة إلى الغزو الشرجي

33 في المائة من حديثي الولادة يحملون هذه البكتيريا وهذه الاصابات تبقى قائمة وتستدعي الكشف والوقاية اللازمين.

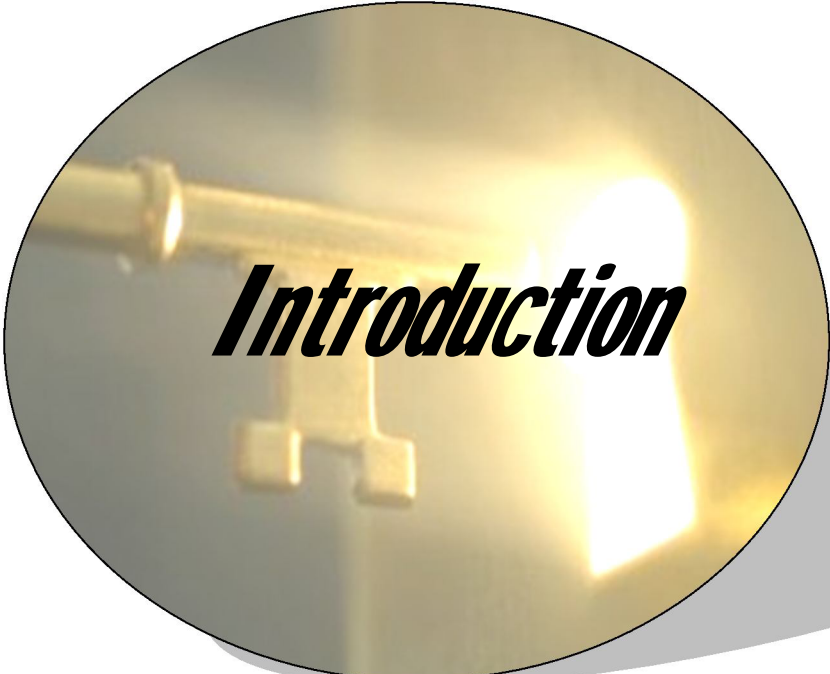
فيما يخص حساسية هذه البكتيريا للمضادات الحيوية, أظهرت الدراسات حساسية عالية للجنتاميسين, ريفاميسين, فانكوميسين و بريستيسناميسين عند كل السلالات المعزولة, أما بالنسبة للإرتروميسين, فوجدنا حساسية عالية عند 83,33 في المائة من السلالات, و مقاومة ضعيفة عند 16,67 في المائة.

لم تسفر دراسة عوامل الإصابة التي تم أخذها بعين الاعتبار ما إذا كانت إحصائيا وراء حمل الأم للعقدية ب, وذلك بسبب العدد المحدود للنساء الحوامل.

الكلمات المفتاح

العقدية ب- اصابة حديثي الولادة - غزو - عوامل الخطر -

عينة مهبلية - عينة شرجية- كشف



Introduction

L'infection néonatale est un problème de santé publique mondiale. Son incidence est proche de 1% des naissances dans les pays industrialisés mais elle est plus élevée dans les pays en voie de développement (**Aujard, 2001**).

Jusqu'à la fin du dernier siècle, les SGB étaient les agents pathogènes principaux de la septicémie et de la méningite néonatale. La pathogenèse de cette infection à début précoce est liée à la colonisation de SGB au niveau du tractus urogénital de la femme enceinte, à la contamination puis l'infection du nouveau-né pendant l'accouchement. A cette occasion, les SGB peuvent éventuellement contaminer la mère par voie hématogène et provoquer une septicémie puerpérale (**Renner et al, 2006**).

Le *S. agalactiae* semble également être incriminé dans plusieurs complications de la grossesse : l'avortement tardif, menace d'accouchement prématurée, rupture des membranes, mort *in utero*, infection urinaire et la fièvre per-partum (**Papiernik et al, 1995**).

En raison de l'importance de la colonisation maternelle, du pouvoir pathogène de cette bactérie, et des complications pouvant en découler, des stratégies de dépistage, de prévention et de traitement ont été développées (**Jaureguy et al, 2003**).

Du fait de l'absence d'une politique de dépistage systématique dans notre pays et du risque de transmission materno-foetale maximal au moment de l'accouchement, notre objectif est de réaliser une étude sur la colonisation vaginale par le SGB et la transmission chez les nouveaux nés au service de maternité et au niveau de l'unité de bactériologie de laboratoire centrale de l'EPH de Ziralda.



CHAPITRE I : Synthèse bibliographique



1.1 Le tractus génital féminin

1.1.1 Les organes génitaux internes

1.1.1.1 Les ovaires

Les ovaires sont le lieu de production des œufs. Chacun des deux ovaires en forme d'amande est long d'environ 3 cm et est suspendu par un méésentère (Richard et al, 2006).

1.1.1.2 Les trompes de l'utérus

Les trompes de l'utérus s'étendent de chaque côté de l'extrémité supérieure du corps de l'utérus à la paroi latérale du pelvis (Richard et al, 2006).

Chaque trompe utérine située au voisinage de l'ovaire, elle capte l'ovocyte après l'ovulation et elle est le siège de fécondation (Maried et Sherwood, 2000 ; Robert et Vincent, 2004 ; Faller, 2006).

1.1.1.3 L'utérus

L'utérus est un organe à paroi épaisse, sur la ligne médiane entre la vessie et le rectum. Il comporte un corps et un col, et s'unit en bas au vagin (Richard et al, 2006).

1.1.1.4 Le vagin

Le vagin est l'organe de la copulation de la femme. C'est un tube fibromusculaire qui s'étend depuis le périnée jusque dans la cavité pelvienne (Richard et al, 2006).

Il permet la sortie du bébé pendant l'accouchement ainsi que l'écoulement du flux menstruel (Maried, 2000 ; Lemaire, 2005 ; Faller, 2006). Le vagin est un excellent milieu des cultures puisque les germes y trouvent la chaleur, l'humidité et un milieu nutritif. Cette cavité est colonisée par une flore commensale d'origine intestinale avec prédominance des lactobacilles à Gram positif (Denis, 2000).

1.1.1.5 Le col

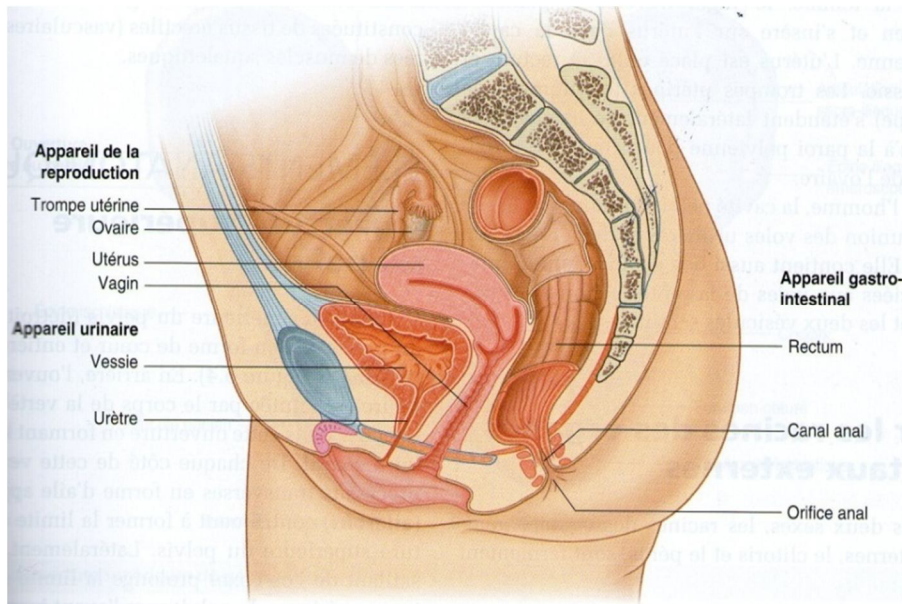
Le col constitue la partie inférieure de l'utérus et est en forme de gros cylindre court avec un étroit canal au centre (Richard et al, 2006).

1.1.2 Organes génitaux externes

La vulve constitue les organes génitaux externes féminins, elle comprend :

- Les grandes lèvres et les petites lèvres*** : sont des replis cutanés qui limitent la vulve.
- Clitoris*** : est un organe érectile médian placé à l'extrémité ventrale de la vulve.

-*L'ostium vaginal*: qui s'abouche les canaux extérieurs des glandes de Bartholin (Lemaire et al, 2005).



Figure(01) : le pelvis féminin (Richard et al, 2006).

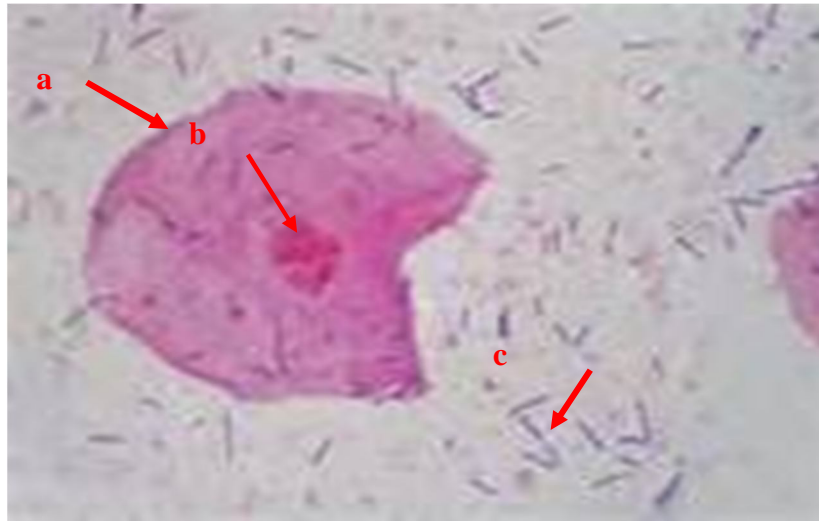
1.2 Rappel sur la flore vaginale

Le vagin est un milieu naturellement septique, la glaire cervicale joue un rôle de verrou microbiologique, empêchant normalement l'ascension d'agents pathogènes et assurant ainsi le maintien stérile de l'endocol, de la cavité utérine, des trompes et du péritoine pelvien.

La flore vaginale normale, ou flore de Döderlein, est un milieu en constante évolution. Présente dès les premiers jours de vie de la petite fille, elle reste pauvre jusqu'à la puberté ; puis les œstrogènes vont induire la sécrétion de glycogène, substrat favori des lactobacilles qui s'y développent dès lors.

Le pouvoir acidifiant de ces derniers est à l'origine d'un pH vaginal entre 3,8 et 4,5 et permet ainsi d'écarter toute multiplication de la plupart des agents pathogènes.

La concentration normale des lactobacilles est de l'ordre de 10^5 à 10^8 bactéries par gramme de sécrétion vaginale. D'autres flores peuvent s'y mêler, d'origine digestive souvent, oropharyngée plus rarement (Leblanc, 2008 ; Balaka, 2005; Quentin, 1997).



a : cellule épithéliale b : noyau c : bacilles de Döderlein

Figure(02): la flore vaginale normale (Menard et Bretelle, 2009).

1.2.1 Classification de la flore vaginale

Donc le vagin peut contenir, à l'état physiologique, des bactéries appartenant à trois grands groupes écologiques :

- Flore de groupe I : flore bactérienne de portage normal spécifiquement adapté à la cavité vaginale chez au moins 98 % des femmes (flore de Döderlein) avec accessoirement des streptocoques alpha-hémolytiques.
- Flore de groupe II : flore bactérienne de portage fréquent (2 à 80 % des femmes) où se trouvent les hôtes usuels de la flore digestive (*S.agalactiae*, *Escherichia coli*...).
- Flore de groupe III : flore bactérienne de portage exceptionnel (0,1 à 2 % des femmes) composée d'hôtes usuels de la flore oropharyngée (*Haemophilus influenzae*, pneumocoques...).

L'âge, les rapports sexuels, les grossesses, les oestroprogestatifs sont autant de facteurs de variation de cette flore, ainsi que les habitudes hygiéno-vestimentaires

1.2.2 Classification des microorganismes selon le pouvoir pathogène

L'étude bactériologique des sécrétions génitales permet de séparer les germes de la flore vaginale normale (tableau I), de diagnostiquer les infections du tractus génital et les vaginoses développées à partir des germes commensaux.

Tableau I : classification des micro-organismes des voies génitales féminines selon le pouvoir pathogène (Fauchère, 1997 ; Béraud, 2004) :

Micro-organismes toujours pathogènes	Micro-organismes commensaux éventuellement pathogènes	Micro-organismes non pathogènes
- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Chlamydia trachomatis</i> - <i>Trichomonas vaginalis</i>	- <i>Candida albicans</i> - <i>Gardnerilla vaginalis</i> - <i>Mobiluncus spp</i> - <i>Mycoplasma</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptocoque spp</i> - <i>Entérobactéries</i>	- <i>Lactobacillus</i> - <i>Corynebacterium</i> - <i>Neisseria</i> autre que <i>gonorrhoeae</i> - <i>Staphylocoques non aureus</i>

1.2.3 La flore vaginale pendant la grossesse

Dans les conditions normale, le PH vaginal est acide (< 4,5). Ce pH dépend surtout des œstrogènes et de leur interaction avec les bacilles de Döderlein. Les modifications de l'équilibre hormonal induites par la contraception orale ou la grossesse provoquent une augmentation du PH vaginal (basique) et des modifications de la glaire cervicale, donc favorise la prolifération de certaines bactéries appartenant à la flore commensale du vagin tel que : le *Streptococcus agalactiae* ou *Escherichia coli* (Blanc et al, 1993).

1.3 Portage et infections par le SGB «*Streptococcus agalactiae*»

1.3.1 *Streptococcus agalactiae* (SGB)

1.3.1.1 Historique

Le streptocoque de groupe B (SGB), streptocoque β -hémolytique, appartient à la famille des **Streptococcaceae** et plus précisément au genre **Streptococcus**. Ce nom d'origine latine (streptus : flexible, coccus : grain) fut attribué pour la première fois en 1877, par Billoth et Elrich à des coques assemblés sous forme de chaînettes dans des blessures infectées (Rolland et Quentin, 2000).

Dix ans plus tard, Nocard et Mollereau décrivent la mastite contagieuse des bovidés provoquée par *Streptococcus agalactiae*.

En 1933, Miss Lancefield propose une classification basée sur la nature antigénique

d'un composé pariétal des streptocoques (le polyoside C), qui a permis d'identifier *S. agalactiae* comme le SGB (**Lancefield, 1934**).

Colebrook et Purdie isolent en 1937 le SGB chez une femme présentant une septicémie puerpérale, et Fry en 1938 retrouve le SGB chez trois personnes présentant une infection du post-partum mortelle.

En 1958, Nyhan et Fousek ont mis en évidence le premier cas de septicémie néonatale à SGB. De même Hood en 1961 établit la relation entre le SGB, les avortements, les mort-nés et les infections néonatales (**Hood et al, 1961;Eickhoff et al ,1964**).

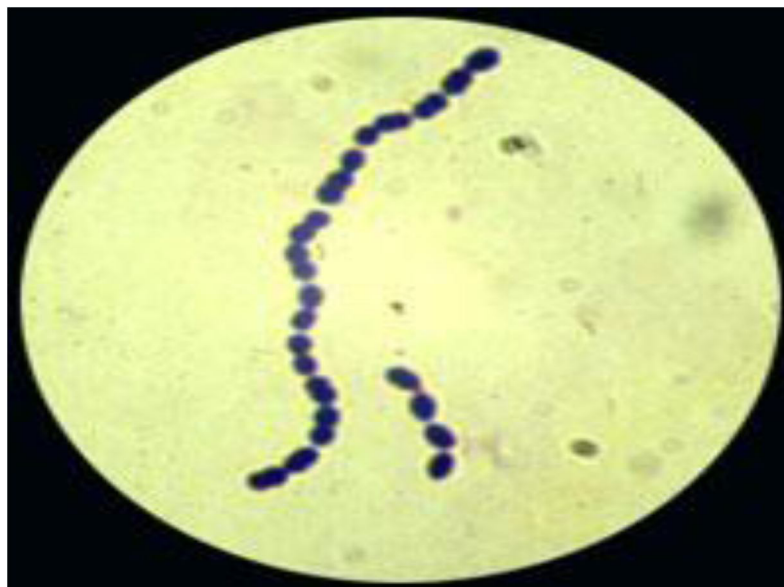
Une étude française de Wahl et Cayeux de 1962 confirme la corrélation entre la méningite néonatale à SGB et la contamination maternelle. Dix ans après Cayeux note la présence de SGB dans les voies génitales des mères ayant un enfant infecté.

En 1973, Franciosi définit les deux formes d'infections néonatales à SGB : la septicémie dès les premières heures et les méningites plusieurs jours après la naissance (**Leruste, 1995**).

1.3.1.2 Caractères bactériologiques

1.3.1.2.1 Caractères morphologiques

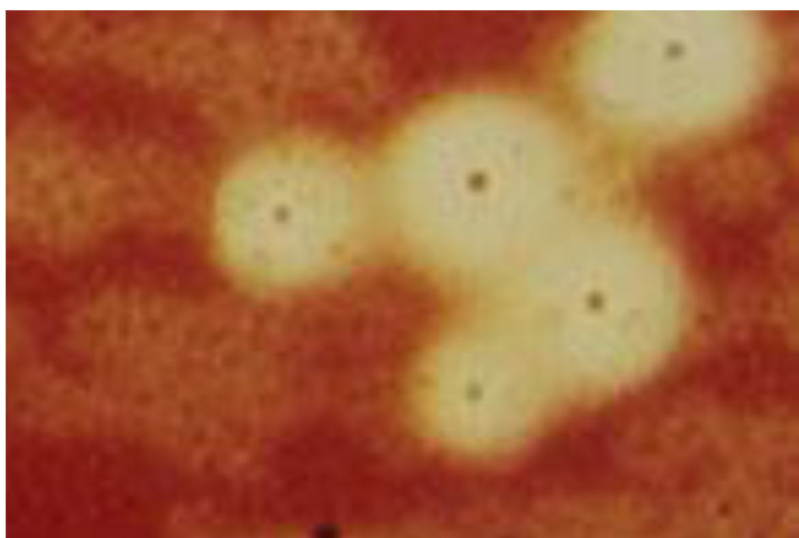
Les SGB sont des cocci à Gram positif, ovales ou ronds, groupés typiquement en chaînettes (figure3) plus ou moins longues, immobiles, asporulés et encapsulés (**Leruste,1995**), appartenant au genre *Streptococcus* de la famille des *Streptococcaceae*. la taille de chaque élément est inférieur à 2µm (**Avril et al,1992 ; Denis,2002**).



Figure(03): Cocci gram positif regroupé en chaînettes (**Pr. A. Bouvet**).

1.3.1.2.2 Caractères cultureux

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, elle pousse sur gélose au sang frais sous l'atmosphère enrichie en CO² et à 37° de température. Après 24h d'incubation le *Streptococcus agalactiae* se présente sous forme des colonies hémolytiques de 0.5-1 mm de diamètre, transparente ou grisâtre (Hart et Shears, 1999).



Figure(04) : β hémolyse (Pr. A. Bouvet).

1.3.1.2.3 Caractères biochimiques

Ils sont catalase -, hippurate +, esculine – (Sicard ,1998). Hyaluronidase+, streptokinase positive qui a une action fibrinolytique (Avril et al, 2002).

1.3.1.3 Caractères antigéniques

1.3.1.3.1 Antigènes de structures

A) Antigènes capsulaire (fréquence et virulence)

Les SGB possèdent une capsule composée de polysides spécifiques de type (Rolland et Quentin ,2000 ; Leruste, 1995). Elle présente des structures antigéniques spécifiques de type « TSA » : qui est un polymère de haut poids moléculaire constitué d'unité répétitives de glucose, galactose, N- acétylglucosamine et l'acide sialique (Denis, 2002).

Ces antigènes de surface, de nature polysaccharidique, ont permis la différenciation des SGB en 9 sérotypes. Lancefield mit en évidence en 1934 trois sérotypes : type I, II et III.

Les sérotypes I, II et III sont les plus fréquents, retrouvés en proportion sensiblement égale dans les infections néonatales précoces. Le sérotype III est le plus souvent en cause dans les localisations méningées (85%) et dans les infections tardives (90%) (Chhuy,

2004). Des antigènes de surface ont aussi été utilisés pour compléter la classification: les protéines R, X et c (Lancefield et al, 1975).

B) Antigènes de la paroi

La présence dans la paroi des streptocoques, d'un polysaccharide C spécifique a permis à LANCEFIELD la classification en groupes antigéniques. Ils ont été classés en sérogroupes de A à T (Pr. Bouvet).

C) Antigènes cytoplasmiques

Le cytoplasme est composé de protéines, de nucléotides, d'acides nucléiques et d'enzymes. Ces différents composants confèrent à la bactérie un pouvoir antigénique supplémentaire (Avril et al ,1992).

1.3.1.3.2 Antigènes extracellulaires

La toxine érotogène responsable de l'éruption observée dans la scarlatine et produite par les souches lysogènes ; la streptolysine O ; la désoxyribonucléase sous 4 formes antigéniques : A, B, C et D ; les hydronucléases ; streptokinases ; diphosphopyridine, nucléotidase (Avril, 1992).

1.3.1.4 Pathogénie

Dans les infections néonatales à SGB, la pathogénie est due à un défaut des mécanismes immunitaires cellulaires et humoraux des défenses de l'hôte et à l'action des différents produits élaborés par la bactérie et des antigènes cellulaires (Leruste, 1995 ; Roure et Roman, 1996).

Les composants cellulaires participant à la pathogénie des infections néonatales sont :

- **L'acide lipoteichoïque** : rôle dans l'adhérence du SGB aux cellules épithéliales des différentes muqueuses spécialement vaginales.
- **Les antigènes spécifiques du type** : activation du complément ou suppression de la migration des leucocytes polymorphonucléaires ou inhibition de la maturation des macrophages des cellules précurseurs.
- **L'acide sialique et la protéine c** : déterminants antigéniques importants pour la formation des anticorps opsonophagocytaires.
- **La protéine R** : rôle important dans la virulence des SGB, à cause du bas niveau des anticorps IgG maternels contre cette protéine.

La connaissance de ces composants cellulaires permet d'expliquer la différence de pathogénicité entre les souches. Celles les plus virulentes auraient une plus grande résistance à l'opsonisation et à la phagocytose (Azèle, 1989).

Aussi, le *Streptococcus agalactiae* a un phospholipase A2 : enzyme capable d'hydrolyser les phospholipides des membranes placentaires, libéré alors les prostaglandines qui seraient à la base de la rupture prématurée des membranes et d'accouchement prématurée (Papiernik, 1995 ; Marchou, 2002).

1.3.1.5 Origine et habitat

Le rectum et le vagin sont les réservoirs majeurs de colonisation du streptocoque de groupe B. Dans la majorité des cas, il y aurait contamination du vagin à partir du rectum (Anthony et al, 1981 ; Anthony et al ,1983). Ainsi, si on compare les souches isolées du vagin et du rectum, elles sont fréquemment de sérotypes identiques (Verani et al, 2010 ; Pierre et al ,1992).

1.4 Portage vaginal chez la femme enceinte

Le taux des patientes colonisées est estimé selon les auteurs entre 5 et 36% (Skoff et al, 2009 ; Hansen et al, 2004). Cette colonisation est dynamique : elle peut être transitoire, intermittente ou continue (Anthony et al, 1978 ; Boyer et al, 1983).

Le réservoir du germe est le tube digestif et plus précisément sa partie distale (rectum). Le mode de contamination est probablement lié à l'hygiène individuelle et se fait par contiguïté comme en témoignent les taux dégressifs de colonisation du rectum à la vulve, au vagin et au col (Baker et al, 1990).

S. agalactiae est également retrouvé dans les urines de 2 à 7% des femmes enceintes, cette bactériurie, symptomatique ou non, témoigne d'une forte colonisation des voies génitales (Verani et al, 2010).

1.5 Infections chez la femme enceinte

1.5.1 Infections gravidiques

Chez la femme enceinte, l'incidence des infections cervicales et vaginales à SGB est mal évaluée car ces infections sont souvent répertoriées avec le portage asymptomatique (Sicard et al, 1998 ; Pierre et al ,1992).

Les risques sont l'infection du pôle inférieur de l'œuf, la rupture prématurée des membranes (Blond et al, 1997). La prématurité, la bactériurie à SGB et la chorioamniotite,

tous ces risques sont liés à une forte colonisation vaginale, les fausses couches, les avortements tardifs et la mort in utero (**Chhuy, 2004**).

1.5.2 Infections du post-partum

Le SGB serait responsable de 20 % des endométrites du post-partum et de 25 % des bactériémies maternelles après césarienne (**Rolland et Quentin ,2000 ; Arnaud et al, 2009**). L'ensemble des infections à SGB (endométrite, septicémie, abcès de la paroi...) sont favorisées par une colonisation génitale quantitativement importante, (**Blanc et al, 1998 ; Guerin et al, 1997**) .Les méningites et les endocardites maternelles sont assez rares (**Rolland et Quentin ,2000 ; Sicard, 1998 ; Wolfe et al, 1998; Guerin et al, 1997**).

1.6 Modes de colonisation chez le nouveau-né

Le nouveau-né peut être contaminé par 4 voies différentes (figure 05) :

1.6.1 Colonisation directe in utero par voie ascendante

Beaucoup plus fréquente, elle est due à l'ensemencement du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital, et peut survenir que les membranes soient rompues ou non. Lorsque les membranes sont intactes, leur altération par l'infection entraîne leur rupture secondaire.

Quand le fœtus est atteint par voie amniotique, les bactéries peuvent être inhalées et/ou dégluties. La colonisation des voies respiratoires et/ou digestives peut être à l'origine d'une infection centrale (sepsis) ou locale (**Vauclaire et Langhendries, 1993**).

1.6.2 Par contact ou inhalation lors du passage dans la filière génitale contaminée (voie très fréquente)

Les taux observés estimés entre 29% et 75% pour Baker lorsque la mère était positive à l'accouchement (**Baker et Edwards, 1990**).

1.6.3 Contamination par voie hématogène placentaire

Cette voie est rare pour le streptocoque du groupe B. Exceptionnellement, elle survient à l'occasion d'une bactériémie maternelle primitive ou à partir d'un foyer d'endométrite, après ascension des bactéries vaginales (**Mey, 2006**).

1.6.4 Transmission horizontale

Après la naissance par contact avec une personne colonisée si les conditions d'hygiène sont mauvaises (lavage des mains insuffisant). Ce mode de transmission est beaucoup plus rare (**Paredes, 1977**), entre les nouveaux-nés de la maternité (transmission d'enfant à

enfant par l'intermédiaire du personnel soignant) (Perelman, 1985).

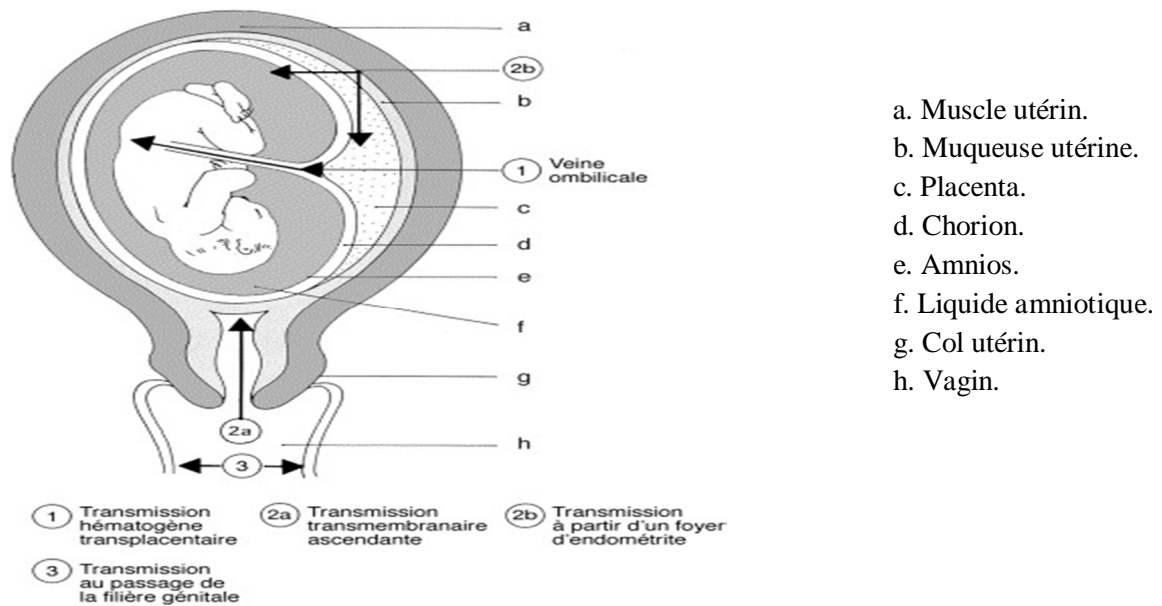


Figure (05) : Mode de contamination maternofoetale (Grenier et Gold, 1986).

I.7 Infections maternofoetales

L'infection bactérienne maternofoetale (IMF) est une infection bactérienne du nouveau-né résultant d'une transmission verticale maternofoetale qui se produit en période périnatale (un peu avant ou au moment de la naissance) et qui s'exprime dès les premières minutes, dans les premiers jours, ou parfois même dans les premières semaines de la vie postnatale.

I.7.1 Infection néonatale précoce « Early Onset Disease : EOD »

Elles surviennent au cours de la première semaine de vie, le plus souvent au cours des 24 à 48 premières heures après la naissance. *S. agalactiae* est retrouvé dans un prélèvement de sang ou de liquide céphalo-rachidien(LCR), dans les 24 premières heures de vie, chez 72 à 80% des nouveau-nés ayant une infection néonatale précoce (95 % dans les 48 premières heures) (Phares et al ,2008; Poyart et al ,2008).

L'infection précoce résulte d'une transmission verticale in utero à partir du tractus génital maternel ou lors du passage de la filière génitale au cours de l'accouchement (Boyer et al, 1983).

Cette forme est caractérisée le plus souvent par une bactériémie (83%), et plus rarement une pneumonie (9%) ou une méningite (7%). Le taux de mortalité de cette forme est de 7% malgré l'utilisation d'antibiotique (Phares et al, 2008).

1.7.2 Infection néonatale tardive « Late Onset Disease : LOD »

Elles surviennent tardivement entre le 7^{ème} jour et le 3^{ème} mois (en moyenne 3 à 4 semaines). Ces formes sont moins graves et mettent plus rarement en jeu le pronostic vital. Le sérotype III est en cause dans plus de 90 % des cas. La méningite, surtout purulente, est souvent décrite comme la forme typique de l'infection tardive (**Lejeune et al, 1991 ; Vanclaire, 1993**).

L'ensemble des manifestations cliniques résulte d'une acquisition du germe au niveau des muqueuses du nouveau-né qui évolue en une bactériémie transitoire asymptomatique et s'étend aux méninges, aux os et aux articulations (**Ferrieri, 1985**).

Tableau II : Caractéristiques des infections à SGB (Melin et al, 1999):

	Infection précoce	Infection tardive
Incidence	1,3 à 5,5 %	0.5 à 1,7 %
Début	≤ à 7 jours (en moyenne 8 à 20 heures de vie)	≥ à 7 jours (en moyenne un mois)
Acquisition	Transmission verticale intra-partum	Transmission horizontale, à l'accouchement ? nosocomiale ?
Caractéristiques cliniques	sepsis, détresse respiratoire avec pneumonie (méningite 5 à 15 %)	Fièvre, méningite, bactériémie ostéomyélite
Mortalité	5 à 20 %	10 %
Sérotype	Tous (surtout III, Ia, II)	Le III surtout

1.7.3 Facteurs de risque de développement d'une infection maternofoetale (Quentin et al, 2002)

- Forte colonisation génitale maternelle au moment de l'accouchement
- Hyperthermie maternelle au cours du travail (> 38,5 °C).
- Bactériurie à SGB au cours de la grossesse (témoigne d'une forte colonisation génitale).
- Antécédents d'enfants infectés par le germe.
- Age maternel < à 20 ans.
- Accouchement prématuré.
- Rupture prématurée des membranes > à 12 heures.
- Liquide amniotique teinté (en faveur d'une chorioamniotite).
- Nombre de touchés vaginaux > à 6.

1.8 Diagnostique bactériologique

1.8.1 fiche de renseignements (femmes enceintes)

Des renseignements concernant ces femmes ont été consignés sur une fiche (âge, niveau socio-économique, parité, âge gestationnel, antécédents médicaux, antécédents gynéco-obstétricaux, infections uro-génitales au cours de la grossesse, prise d'antibiotique dans le dernier mois avant le dépistage.....) (Ferjani et al, 2005).

1.8.2 Prélèvements

A) Chez les femmes enceintes

La colonisation par le streptocoque B peut être chronique, intermittente ou transitoire. Il apparaît donc nécessaire de réaliser le dépistage à proximité de l'accouchement (après la 36^e semaine d'aménorrhée) (Rolland et Quentin, 2000).

Au plan bactériologique ; les sites de prélèvement sont maternels : rectum, vagin, endocol, urines. Le faible taux de portage a été attribué à une sous estimation en raison de la pose systématique d'un spéculum pour réaliser le prélèvement. En effet, les lames masquent la face antérieure et postérieure du vagin, réduisant ainsi la surface étudiée, notamment au niveau du tiers inférieur où se trouve la colonisation la plus importante de SGB (Chhuy et al, 2005). Les écouvillons utilisés sont dotés d'un milieu de transport (Portagerm bio Mérieux, France). Les échantillons prélevés ont été acheminés au laboratoire de microbiologie dans un délai maximum de trois heures (Ferjani et al, 2005).

B) chez les nouveaux nés

a- Prélèvements périphériques

Les indications de ces prélèvements sont larges (annexe1) et les recommandations vis-à-vis de la prophylaxie des infections néonatales à SGB ont fait baisser le taux de ces infections mais ont entraîné une nette augmentation du nombre d'enfants prélevés (Noguer Stroebel et al, 2008).

Le diagnostic de la colonisation à SGB peut se faire dès la naissance par un prélèvement de liquide gastrique du nouveau-né obtenu par aspiration, par un à quatre prélèvements superficiels en utilisant un écouvillon (nez, gorge, oreille, anus), par une carotte placentaire prélevée à proximité de l'insertion du cordon et par prélèvement cutané au niveau de l'aisselle. Ils reflètent directement l'environnement bactérien dans lequel a baigné le fœtus, de ce fait, ils doivent être réalisés immédiatement après l'accouchement sans dépasser trois heures (Chhuy et al, 2004).

b- Prélèvements centraux

Lorsqu'une infection néonatale est suspecte, des hémocultures (avant toute antibiothérapie) et une ponction lombaire seront réalisées.

Les hémocultures : examen de référence dans le diagnostic d'infection néonatale, à réaliser en cas de prélèvement périphérique positif.

La ponction lombaire : indiquée chez les enfants de moins de 72 heures présentant une altération de l'état général, des signes cliniques de sepsis ou des signes neurologiques. Elle sera réalisée en deuxième intention en cas d'hémocultures positives.

La recherche d'antigènes du SGB dans les urines et l'ECBU (Examen Cytobactériologique des Urines) ne sont pas recommandés chez les nouveau-nés de moins de 72 heures.

Les sites de prélèvement chez le nouveau-né sont de valeur inégale, la positivité des prélèvements périphériques (ombilic, conduit auditif, peau, pharynx) ne suffit pas à affirmer l'infection, à l'inverse des prélèvements centraux (hémoculture et le LCR).

(Lejeune et al, 1984).

1.8.3 Culture classique

Elle s'agit de l'ensemencement direct du prélèvement sur une gélose au sang du mouton, incubée en anaérobiose. Les boîtes sont examinées après 24 heures d'incubation à 37°C et peuvent être réincubées 24 heures supplémentaires pour une relecture.

Les cultures positives présentaient une petite zone d'hémolyse autour de la colonie (**Tazi et al, 2009**), c'est la méthode de référence mais les résultats ne peuvent pas être obtenus avant 24 heures (**Blanc et Boubli, 1992 ; Lejeune et al, 1991**).

L'autre inconvénient de la culture est que le résultat peut être faussement négatif en raison d'une inhibition de la pousse de la bactérie à cause d'un prélèvement de mauvaise qualité ou à cause de facteurs maternels : utilisation d'antibiotiques (ATB) oraux ou de produits d'hygiène féminines (douches, traitements vaginaux contre la candidose, lubrifiants) (**Puopolo et al, 2005**).

1.8.4 Détection sur milieux sélectifs

Plusieurs études ont démontré l'utilité des milieux sélectifs qui facilitent le dépistage anténatal et permettent une détection sensible et spécifique des SGB (**Bou et al, 2005 ; Tazi et al, 2008**). Deux types de milieux ont été développés et sont commercialisés :

*Le premier, dénommé milieu **Granada TM**, utilise la propriété unique du SGB à synthétiser un pigment orange, récemment caractérisé en tant que granadaene, sur une

gélose qui contient de l'amidon, des peptones, de sérum, du méthotrexate et après incubation à 37 °C sous anaérobiose.

*Le second type est un milieu **chromogène**, qui permet la détection spécifique d'un enzyme en utilisant un substrat chromogène. Le milieu StrepB Select TM permet la détection spécifique des SGB qui apparaissent bleu foncé après 24heures d'incubation en aérobiose.

Après 24 heures d'incubation, le pourcentage de détection pour les deux milieux sélectifs est significativement supérieur à celui sur gélose au sang, ceci d'après une étude comparant les trois milieux.

A 48 heures, il n'y a pas de différence concernant la sensibilité. En revanche, les milieux sélectifs, *chromogène StrepB Select TM* et *Granada*, présentent un avantage majeur par rapport à une gélose au sang non sélective : l'aspect caractéristique des colonies bleues et oranges les rend très facilement identifiables, même par un regard peu expérimenté. Ces colonies apparaissent très clairement même lorsqu'elles sont en très faible nombre au sein d'une flore. De plus, la flore vaginale saprophyte associée est efficacement inhibée sur les deux milieux sélectifs (**Tazi et al, 2008**).

1.8.5 Diagnostique de présomption

Cinq caractères combinés permettent une pré-identification avec une approximation intéressant du *Streptococcus agalactiae*, ces caractères sont :

***Hémolyse** : l'étude de l'hémolyse autour des colonies sur gélose additionnée à 5% de sang (de mouton ou de cheval) permet de distinguer deux types d'hémolyse :

-**Hémolyse α** : la lyse des globules rouges est incomplète avec verdissement de milieu.

-**Hémolyse β** : la lyse des globules rouges est totale avec éclaircissement de la gélose autour des colonies de *Streptococcus agalactiae* (diamètre de 3 à 4mm) observé après 24-48h d'incubation .Cette hémolyse est due à l'action de l'enzyme **Streptolysine S**.

***Teste de bile esculine** : le bile esculine c'est un milieu qui contient 40 % de bile, la culture et le noircissement de milieu montre que les souches sont bile esculine positives.

***Le bouillon à 6,5 de Na Cl** : le test de tolérance au Na Cl permet de distinguer entre les entérocoques et les streptocoques de groupe D, mais il n'est pas spécifique puisque 80% de SGB montre ce caractère.

(Avril, 2002)

1.8.6 Diagnostique de confirmation

L'identification précise d'un streptocoque basé sur l'étude de ses caractères antigéniques et sa classification dans les groupes de **LANCEFIELD** (Avril *et al*, 2002).

1.8.7 Méthodes basées sur la biologie moléculaire

Elles ont démontré leur fiabilité et une plus grande rapidité par rapport à la culture (Bergeron *et al*, 2000). Cette stratégie d'amplification génique (PCR) est capable de détecter la présence du SGB en moins d'une heure, ce qui permet d'obtenir un résultat même lorsque le prélèvement est effectué lors de l'arrivée en salle d'accouchement tout en restant économiquement abordable.

Les amorces et les sondes d'hybridation permettent une amplification du gène *cfb* codant pour le facteur CAMP, ce qui rend la réaction d'amplification génique spécifique du SGB même au sein d'une flore d'accompagnement polymorphe (Vangelder *et al*, 2002). Malgré l'augmentation de la sensibilité de ces tests en PCR, la culture reste un examen accessible ne nécessitant pas une haute technologie et n'engendrant pas un coût élevé (Goodrich *et Miller*, 2007).

1.8.8 Tests rapides

Ils ont été développés pour détecter le portage du SGB au niveau vaginal en 30 minutes (Vangelder *et al*, 2002). De nombreuses méthodes ont été proposées pour permettre un diagnostic direct rapide parmi lesquelles : l'immunofluorescence, la coagglutination, le test au latex, les sondes à ADN et les tests immunoenzymatiques de 1ère génération.

Le Test Strep B OIA® qui est un test immunoenzymatique est beaucoup plus sensible pour les faibles colonisations (Schuchat, 1998).

Le principe du test rapide **Strep B OIA**, évalué par plusieurs auteurs, utilise la fixation d'antigène du SGB présent dans le prélèvement sur un film contenant des anticorps antistreptocoque B. Il s'ensuit une modification de l'épaisseur de ce film.

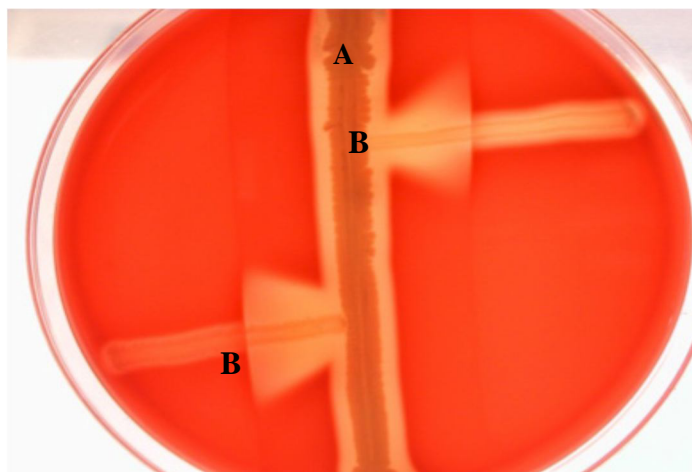
Le phénomène de réflexion de la lumière est ensuite utilisé : une variation de l'épaisseur entraîne une modification de la trajectoire de la lumière réfléchie, un changement de couleur apparaît (« or » en l'absence d'antigène, « bleu » en présence d'antigène).

L'examen direct par **coloration de Gram**, permet un diagnostic rapide. Toutefois, il manque de sensibilité et de spécificité puisque l'on ne peut distinguer le streptocoque du groupe B des autres streptocoques (Mey, 2006).

1.8.9 Camp-Test

En mettant en présence une souche de *Streptococcus agalactiae* produisant une

protéine extracellulaire appelée Camp-factor et un *Staphylococcus aureus* produisant une β hémolysine. On observe au point de rencontre des deux substances une zone d'hémolyse complète avec un aspect en écaille (avril, 2002).



A : *S. aureus* **B** : GBS

Figure (06): Zone d'hémolyse en forme de flèche; (où les enzymes de *S. aureus* et GBS en synergie provoquent la lyse des membranes cellulaires des GR) (Newton, 2005).

1.8.10 L'antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques des isolats a été évaluée par la technique de diffusion en milieu gélosé de Muller-Hinton additionné de 5 % de sang selon les normes NCCLS (Ferjani et al, 2005). Les souches de SGB sont toujours sensibles aux β -lactamines, aux glycopeptides, à la pristinamycine et à la lévofloxacine (Aujard, 2001; Quentin, 2002).

1.8.10.1 SGB et sensibilité aux antibiotiques

S. agalactiae est un germe sensible aux bêta-lactamines et en particulier la pénicilline G aux amino-pénicillines et à l'imipénème. Les céphalosporines de première, deuxième (excepté la céfoxitine) et troisième génération. Bien que les pénicillines soient utilisées depuis plus de cinquante ans, aucune résistance n'a été décrite à ce jour. Néanmoins ils existeraient des souches de *S. agalactiae* dites de sensibilité un peu diminuée.

S. agalactiae possède une résistance naturelle à la bacitracine, à l'acide nalidixique, à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et aux métronidazoles. Il existe également une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides liée au métabolisme anaérobie des streptocoques. Cependant, l'association avec une bêta-lactamines, qui inhibe la synthèse de la paroi et facilite la pénétration de l'aminoside dans la bactérie entraîne une action synergique bactéricide.

Des résistances acquises ont été observées notamment aux macrolides : érythromycine

et clindamycine chez respectivement 7,4% et 3,4% des souches invasives et 16% et 15% des isolats issus du tractus génito-urinaire. La résistance de *S.agalactiae* aux tétracyclines atteint actuellement 95% des souches (Denis, 2002).

1.8.10.2 Mécanismes de résistance des streptocoques aux antibiotiques

***Bêtalactamines**

Les bêtalactamines sont les antibiotiques de référence pour traiter les infections streptococciques. La structure pariétale des streptocoques n'oppose pas d'obstacle à la diffusion des bêtalactamines et il n'a pas encore été décrit de bêtalactamases chez ces bactéries. Le seul mécanisme de résistance connu est dû à une mutation des cibles sur lesquelles se fixent normalement les bêtalactamines pour inhiber la multiplication bactérienne.

Ces cibles sont des enzymes appelées protéines de liaison aux pénicillines, qui participent aux dernières étapes de synthèse du peptidoglycane. Une modification des PLP diminue leur affinité pour les Bêtalactamines et entraîne une résistance croisée à tous les antibiotiques de cette famille. Ce type de résistance se répand grâce au transfert de fragments d'ADN entre les espèces proches de streptocoques, autres que les streptocoques beta-hémolytiques (Amoroso et al, 2001).

***Macrolides et apparentés**

Les macrolides, lincosamides et streptogramines représentent une alternative aux bêtalactamines dans le traitement des infections causées par les bactéries à Gram positif, particulièrement chez les sujets allergiques à la pénicilline qui représentent jusqu'à 12 % des patients (Pearlman et al, 1998).

Les bactéries à Gram positif résistent aux macrolides par deux mécanismes principaux : soit par un *efflux actif* grâce à des gènes appelés *mef* (pour *macrolide efflux*), soit par une *méthylation* induite par les gènes appelés *erm* (pour *erythromycin ribosome methylase*), qui modifie la cible ribosomale. Les gènes *mef* sont sur des transposons alors que les gènes *erm* se trouvent sur des plasmides ou des transposons (Leclercq, 2002).

***Glycopeptides**

Les glycopeptides agissent sur la synthèse de la paroi des bactéries Gram positive, il s'agit d'une inhibition de la synthèse de peptidoglycane (Béraud, 2004).

***Aminosides**

Les streptocoques sont naturellement peu sensibles aux aminosides (résistance de bas

niveau) car la chaîne de transporteur d'électrons nécessaire pour la pénétration de ces antibiotiques à l'intérieur des bactéries n'est pas complète. En revanche, leur vitesse de bactéricide élevée et l'effet synergique de leur association avec les bêtalactamines sont souvent recherchés dans le traitement des infections streptococciques sévères (**Graham et Gould, 2002**).

La résistance de haut niveau aux aminosides est due à des gènes codant pour des enzymes qui greffent des radicaux sur l'antibiotique et entraînent ainsi leur inefficacité. Il s'agit d'acétyltransférases, de phosphotransférases et de nucléotidyltransférases (**Galimand et al, 1999 ; Kaufhold et Potgieter, 1993**).

***Rifampicine**

La rifampicine a été utilisée pour éradiquer le portage pharyngé du SGA ou la colonisation génitale du streptocoque du groupe B (SGB) (**Morris et al, 1993**). Le mécanisme de résistance des streptocoques à la rifampicine semble dû à une mutation de la cible de l'antibiotique, la sous-unité beta de l'ARN polymérase. Cette mutation est codée par le gène *rpoB* (**Aubry-Damon et al, 2002**).

***Tétracyclines**

La résistance des bactéries à Gram positif aux tétracyclines repose sur deux mécanismes principaux : soit elles limitent l'accès de l'antibiotique à sa cible ribosomale par un mécanisme d'efflux, soit elles masquent le site d'insertion de l'antibiotique sur le ribosome grâce à une protéine cytoplasmique (**Speer et al, 1992**).

***Quinolones**

Il existe un mécanisme de résistance commun à toutes les quinolones, lié à un efflux actif des molécules, par l'intermédiaire d'une protéine transmembranaire et qui peut augmenter les CMI de ces antibiotiques (**Schmitz et al, 2001**). Un autre mécanisme de résistance concerne la cible intracellulaire des quinolones : il s'agit de l'ADN-gyrase et de la topo-isomérase IV. Les mutations peuvent concerner soit l'une des deux sous-unités de la topo-isomérase (ParC ou ParE), soit l'une des deux sous-unités de l'ADN-gyrase (GyrA ou GyrB) (**Schmitz et al, 2001 ; Gonzalez et al, 1998**).

1.9 Traitement et prévention des infections maternofoetales

1.9.1 Antibio prophylaxie

L'utilisation d'antibiotiques actifs sur *S.agalactiae*, en particuliers les pénicillines, a théoriquement deux objectifs :

-éviter la transmission de *S.agalactiae* en éradiquant ou diminuant la colonisation des

voies génitales de la mère (antibiothérapie ante-partum),
-prévenir le développement des infections du nouveau-né (antibiothérapie per-partum).

Ce type de prévention ne vise que la transmission materno-fœtale et ne permet pas de lutter contre les infections tardives acquises après la naissance.

1.9.1.1 Antibiothérapie ante-partum

Les tentatives d'éradication par un traitement antibiotique par voie générale de *S.agalactiae* de la flore vaginale et intestinale pendant la grossesse ne se sont pas souvent avérées très efficaces. Même si une diminution significative du taux de colonisation maternelle et de transmission du nouveau né a été montrée, un traitement antibiotique n'assure pas une disparition de *S.agalactiae* pour toute la durée de la grossesse, et une large antibiothérapie de plusieurs jours entraîne inéluctablement une pression de sélection sur les autres germes composant les flores bactériennes. Ce mécanisme pourrait éventuellement être à l'origine d'infections néonatales à germes résistants et notamment à *E.coli*, voire à d'autres entérobactéries résistantes (Klebsilla, Entérobacter, Serratia).

L'Antibiothérapie *ante-partum* ne semble donc pas être une stratégie adaptée.

1.9.1.2 Antibiothérapie per-partum

Cette stratégie consiste à administrer une antibiothérapie intraveineuse, le plus souvent une pénicilline, chez les mères colonisées par *S.agalactiae*, au moment de l'accouchement. La mise en place de ce traitement permet de réduire, d'une part, la colonisation maternelle et ces conséquences en *post partum* et, d'autre part la colonisation du nouveau né.

Le polémique n'est pas close quand aux indications du traitement antibiotique au début du travail. Les uns sont partisans d'une antibioprophylaxie par pénicilline lorsqu'il existe des facteurs des risques : MAP, RPM, fièvre maternelle, IMF à *S.agalactiae* lors d'une grossesse antérieure, infection urinaire à *S.agalactiae* au cours de la grossesse.

D'autres sont partisans de l'antibioprophylaxie systématique, c'est -à-dire à toute les femmes porteuses de *S.agalactiae*, dépistées par un prélèvement vaginal entre la 35^e et la 37^e semaine d'aménorrhée(SA) (annexe 2).

1.9.1.3 Antibiothérapie post-natal

Une antibioprophylaxie par pénicilline chez les nouveau-nés de mères colonisées par *S.agalactiae* dès la naissance à l'avantage de ne pas exposer la mère aux antibiotiques et de réduire le risque de réactions secondaires allergiques. Cependant le traitement néonatal s'est avéré inefficace dans la prévention des infections précoce à *S.agalactiae*.

Cela s'explique aisément par le fait que, dans une grande majorité des cas, les

infections bactériémiques sont déjà présentes à la naissance ou se développent dès les premières heures de vie (Denis, 2002).

1.9.2 Autres stratégies préventives

1.9.2.1 Désinfection vaginale

Cette méthode est moins efficace que les antibiotiques par voie générale, néanmoins, elle a l'avantage d'être facilement réalisable et de ne pas accroître les résistances des agents pathogènes aux antibiotiques (Burman et al, 1992).

Alors, la désinfection vaginale à la chlorhexidine constitue une approche simple, peu coûteuse et non invasive qui doit être pratiquée de manière routinière (Albert et al, 1995).

1.9.2.2 immunoprophylaxie

L'immunoprophylaxie envisagée depuis longtemps reste actuellement sans efficacité pour lutter contre les infections à *Streptococcus agalactiae* (Quentin et al, 2002).

1.9.2.2.1 immunoprophylaxie passive

L'immunisation passive maternelle a eu un effet mineur sur l'incidence des infections néonatales, en raison d'un passage transplacentaire des immunoglobulines trop faible et d'une quantité d'anticorps insuffisante dans les préparations.

L'immunisation passive du nouveau-né pourrait prévenir expérimentalement les formes tardives d'infection (Quentin et al, 2002).

1.9.2.2.2 immunoprophylaxie active (vaccination)

Les travaux initiaux d'immunisation active se sont focalisés sur le développement d'un vaccin utilisant des antigènes capsulaires qui sont non toxiques, mais une production d'anticorps n'a pu être obtenue que chez 60 à 70% des femmes vaccinées (Quentin et al, 2002). L'utilisation des vaccins purifiés contre les antigènes capsulaires du SGB permet de développer des anticorps pouvant passer la barrière placentaire et permettre une protection du nouveau-né contre cet agent. C'est une excellente alternative préventive permettant d'éviter le développement de résistances aux antibiotiques (Patten et al, 2006).

D'autre part, différentes préparations vaccinales à base d'antigènes capsulaires polysaccharidiques (peu immunogènes) des principaux sérotypes (Ia, Ib, II, III et V) sont toujours en développement et en cours d'évaluation. Une nouvelle piste pour le développement d'un vaccin contre le *S.agalactiae*. Ce dernier secrète une protéine (GAPDH) qui est capable d'interférer avec le système immunitaire de l'hôte pour faciliter la colonisation, GAPDH augmente le taux de IL-10 (interleukine 10) qui a l'effet de diminuer la défense immunitaire, l'infection bactérienne est alors facilitée. Le GAPDH

pourrait être utilisée dans les approches immunoprotectrices contre le *S.agalactiae*. Cette protéine devrait être un bon candidat vaccin.

Au total, la stratégie idéale consisterait à induire une immunité mucoale permettant d'éliminer le portage vaginale du *S.agalactiae*. Cette vaccination permettrait de supprimer le traitement prophylactique effectué au début de travail chez les femmes enceintes infectées par cette bactérie (Denis, 2002 ; Madureira et al, 2007).

1.9.3 Antibiothérapie chez le nouveau-né

L'ANAES considère qu'une absence d'antibioprophylaxie maternelle complète, avec un antécédent d'infection néonatal à SGB et/ou un portage vaginal de SGB chez la mère et/ou une bactériurie chez la mère pendant la grossesse, représente un critère anamnestique majeur d'infection bactérienne du nouveau-né.

Deux cas de figure se présentent pour la prise en charge du nouveau-né :

❖ *Le nouveau-né symptomatique*

Pour tous les nouveau-nés présentant des signes infectieux, un bilan clinique et para-clinique est recommandé (Annexe 3) (ANAES, 2002).

Si l'enfant présente des symptômes évocateurs d'infection, il est nécessaire de le traiter avant d'avoir les résultats des prélèvements bactériologiques. Il faut donc mettre en place une antibiothérapie probabiliste par intra veineuse (IV) **en urgence**, utilisant une bi antibiothérapie généraliste par association de β lactamines et d'aminosides.

Le traitement est arrêté si les résultats des prélèvements biologiques et bactériologiques reviennent négatifs et que le nouveau-né n'est plus symptomatique (HAS, 2002 ; Blond et Gold, 2001).

❖ *Le nouveau-né asymptomatique*

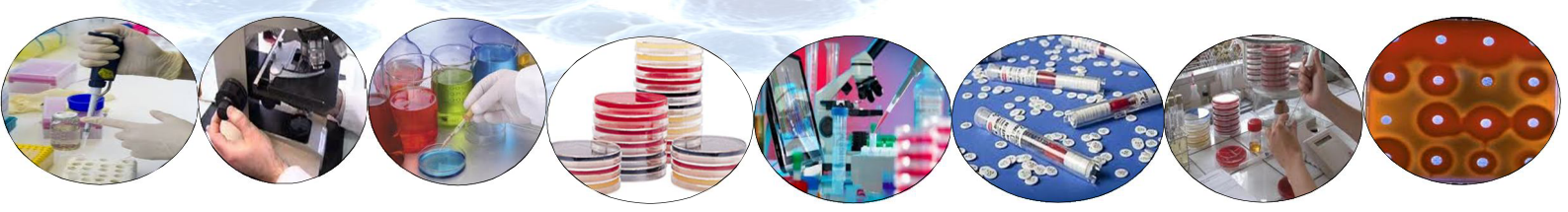
Les indications d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né asymptomatique dans le cadre d'un protocole « Streptocoque B » (Annexe 4).

Le cas des nouveau-nés colonisés asymptomatiques ou peu symptomatiques se rencontre fréquemment en maternité. Il représente le problème des porteurs sains, car le risque de ces nouveaux nés est de déclarer une infection néonatale tardive.

La difficulté clinique repose sur le fait de différencier les colonisations simples des infections asymptomatiques. L'attitude générale est donc de mettre en place une surveillance clinique et biologique rapprochée afin de dépister au plus tôt les infections néonatales réelles (HAS, 2002 ; Blond et Gold, 2001 ; Lincetto et Guire, 2009).



Chapitre II : *Matériel et Méthodes*



Cette étude à pour but :

- D'isoler, identifier les SGB et connaître ses caractères bactériologiques.
- Apprendre les techniques de mise en évidence de SGB.
- Étudier la colonisation vaginale par le SGB et la transmission chez les nouveaux nés au service de maternité de l'EPH de Zeralda.
- Rechercher les facteurs de risque associés à ce portage.
- Connaître l'origine de SGB dans le vagin.
- Évaluation des antibiotiques pour but d'individualiser les patientes porteuses de SGB avant et au moment de l'accouchement afin de leur offrir une antibiothérapie.

➤ ***Type d'étude et population étudiée***

Nous avons réalisé une étude prospective sur une durée allant de 10 Mars jusqu'au 29 Août 2013. Soixante femmes enceintes et 6 nouveaux nés ont été incluses notre étude. Le choix a été restreint sur les femmes enceintes après la 36^e SA au niveau des salles de consultation, d'admission, et les nouveaux-nés des mères porteuses le SGB au niveau de la salle d'accouchement de l'EPH de Zeralda. Nous avons exclu toutes les parturientes ayant reçu une antibiothérapie, quel que soit son type et sa durée, dans les 15 jours précédant l'admission.

➤ ***Recueil de donnée***

Le recueil des données était réalisé par l'interrogatoire des parturientes dès l'entrée à la salle de consultation, salle d'admission et complété par un recueil sur le dossier médical juste après l'accouchement pour les paramètres liés au travail, à l'accouchement et au nouveau-né.

Pour chaque parturiente et chaque NNé, nous avons établi une fiche de recueil standardisée (annexe 5, 6, 7,8).

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Comme matériel biologique on a : les prélèvements vaginaux (PV), prélèvements rectaux(PR), prélèvements périphériques(PPQ) (oreilles, nez, aisselles), sang, carottes placentaires.

II.1.2 Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans notre mémoire est indiqué dans l'annexe (10).

II.2 Méthodes

II.2.1 Techniques de prélèvement

II.2.1.1 Prélèvements

Le dépistage du SGB a été réalisé de façon systématique chez les femmes enceintes en consultation prénatale et les nouveaux nés à la salle d'accouchement, donc notre étude englobe 120 PV (2 PV pour chaque femme), 60 PR, 6 prélèvements périphériques des nouveaux-nés (PPQ), 3 hémocultures (2 des NNés), et 6 prélèvements placentaires (PPC).

Pour une meilleure réalisation des prélèvements, il faut respecter les conditions suivantes :

*** prélèvements vaginaux:**

- pas de prise d'antibiotiques dans le dernier mois avant le dépistage.
- pas de toilette génitale depuis 6h au moins et pas de miction depuis 2h au moins.
- pas de rapport sexuel depuis 3 jours.

***prélèvements périphériques**

- ils sont réalisés systématiquement chez tout enfant d'une femme porteuse de SGB.
- doivent être fait le plus possible près de l'accouchement en salle de travail (**Denis et al, 2007**).

*** prélèvements centraux**

- **L'hémoculture** : le prélèvement d'hémoculture doit être réalisé de façon aseptique et itérative, en quantité suffisante sur 2 flacons différents. Ces flacons sont fournis sur demande et conservés à l'abri de la lumière et à température ambiante : un flacon pour culture aérobie et un flacon pour culture anaérobie (**LBM, 2013**).
- LCR** : les prélèvements sont effectués lors d'une hospitalisation, généralement en fin de matinée, sous contrôle médical (**Lehmenn et Berger, 2007**).

II.2.1.2 Techniques des prélèvements

▪ Prélèvement vaginal et rectal

Technique

- Vérifier l'identité du sujet et numéroter l'écouvillon stérile.
- Mettre les gants à usage unique.
- La patiente fait adopter une position gynécologique.
- Désinfecter la zone de prélèvement par une compresse imbibée de bétadine.
- Laisser agir 1 à 2 minutes puis rincer par une compresse imbibée de sérum physiologique.
- Enlever l'écouvillon du tube.
- Écarter les grandes lèvres.

-Réaliser une rotation de 360° au niveau du tiers inférieur du vagin (2 PV pour chaque patiente) (Denis et al, 2007).

Il n'est pas recommandé d'utiliser un spéculum (LBM, 2013).

-avec un troisième écouvillon stérile ; Réaliser un balayage au niveau du tiers inférieur du rectum puis la marge anale (Ferjani et al, 2005). Les PV et les PR prélevés ont été acheminés au laboratoire de microbiologie dans un délai maximum de trois heures accompagné d'une fiche clinique (annexe 5) (Ferjani et al, 2005).

▪ **Prélèvements périphériques et prélèvements placentaires**

PPQ : Ils sont effectués par écouvillonnage des cavités naturelles du NNé et de la peau, ils concernent des sites multiples : conduit auditif externe, narines, les aisselles.

PPC : Avec un bistouri, réaliser une biopsie d'environ 1 cm² de surface portant sur toute l'épaisseur du placenta près de l'insertion du cordon, le morceau de placenta recueilli (figure 07) est déposé dans un flacon stérile (étiqueter le flacon) (Denis et al, 2007).

Les pvts sont effectués à la salle d'accouchement, juste après l'accouchement et ont été acheminés au laboratoire de microbiologie accompagné d'une fiche clinique (annexes 9) sans dépasser une heure.

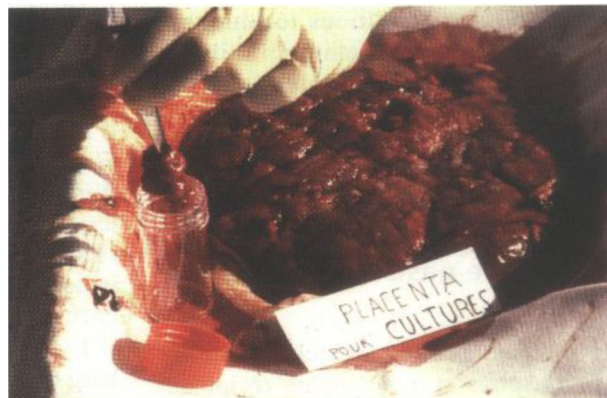


Figure 07 : Réalisation d'une biopsie placentaire (Denis et al, 2007).

▪ **Prélèvement sanguin pour hémoculture**

Les hémocultures sont réalisées chez tous les NNés suspects d'infection. Elles peuvent être effectuées à partir du cathéter ombilical pendant les 2 ou 3 premiers jours, sinon la ponction est faite sur une veine périphérique après une désinfection avec un antiseptique. La désinfection cutanée parfois est difficile chez les NNés fortement colonisés par les SGB qui peuvent contaminer le flacon lors de la ponction expliquant certaines hémocultures positives chez des NNés cliniquement et biologiquement normaux (Denis et al, 2010).

La décharge bactérienne dans le sang n'est pas toujours constante et peut être entravée par des substances inhibitrices (anticorps, antibiotiques). Des séries d'hémocultures sont donc recommandées au moment du pic thermique, de façon répétée et espacée dans le

temps pour isoler plus facilement le germe en cause (LBM, 2013).

Mode opératoire : il est signalé dans l'annexe 11, le prélèvement est réalisé par l'infirmier.

▪ **Le prélèvement du LCR (ponction lombaire)** : il est réalisé par le pédiatre.

-la ponction lombaire se fait chez les NNés suspects d'infection ayant une hémoculture positive à SGB, signes neurologiques et altération de l'état général non ou mal expliquée (Denis et al, 2010).

-Elle se fait entre la 4e et la 5e vertèbre lombaire. La stérilité est bien sur de rigueur, la peau est désinfectée à la teinture d'iode ainsi que les doigts du préleveur.

- Prélever le volume nécessaire dans les tubes adéquats (le liquide s'écoule goutte à goutte) pour les explorations cliniques (biochimique, bactério-cytologique...).

-Transférer le prélèvement au laboratoire avec une fiche de suivi (annexe 7) le plus rapidement possible, de préférence à **sur glace** afin de minimiser l'activité des protéases. Le temps maximum entre prélèvement et traitement au laboratoire doit être de quatre heures (Lehmann et Berger, 2007).

II.2.2 Examen cyto bactériologique des prélèvements

II.2.2.1 Examen direct des prélèvements

A) Pour les PV

➤ **Technique**

-Décharger chaque premier écouvillon vaginal dans l'eau physiologique.

-Homogénéiser très bien le contenu.

-Déposer une goutte entre lame et lamelle (éviter les bulles d'air) et observer sous un microscope optique à l'objectif x 40 à sec.

-Sur une fiche, noter l'abondance des leucocytes qui signifie la présence d'une infection, la mobilité de *Trichomonas vaginalis* par exemple, et la présence d'un pathogène (bactéries, levures) (Denis et al, 2007).

B) Pour le LCR : Cet examen permet de confirmer le diagnostic de méningite néonatale (Denis et al, 2010).

➤ **Examen macroscopique** : Cet examen a permis d'apprécier l'aspect et la couleur du LCR.

L'aspect du LCR est noté dès l'arrivée de l'échantillon ; Il peut être clair louche, trouble, purulent, hématique, xanthochromique, un LCR clair n'exclut pas une méningite. Dans tous les cas, une culture systématique s'impose (RNLS, 2008).

➤ **Examen microscopique** : Il permet une étude cytologique (RNLS, 2008).

-**La cytologie quantitative** est effectuée sur le LCR total par dénombrement sur cellule de

Malassez ou de Nageotte qui permet de déterminer le nombre de cellule par mm^3 de LCR.

➤ **Technique**

-Déposer une goutte par la micropipette sur une cellule de Malassez ou de Nageotte et recouvrir par une lamelle.

-Observer sous un microscope optique à l'objectif x 40 à sec, et sur une fiche on note l'abondance des leucocytes qui signifie la présence d'une infection (**Denis et al, 2010**).

Un LCR normal du nouveau-né comprend 0-50 globules blanc/ mm^3 le pourcentage de polynucléaires est très variable, mais les travaux les plus récents qui ont exclu toute infection par PCR montrent que 88% des NNés n'ont pas de polynucléaires neutrophiles dans le LCR. Lors de méningite, comme chez l'adulte, le nombre de leucocytes/ mm^3 s'élève (**Denis et al, 2010**).

II.2.2.2 Culture

II.2.2.2.1 Subculture

On décharge chaque deuxième écouvillon vaginal, les autres PR, PPQ, et les carottes placentaires dans des tubes au BGT qui favorisent une bonne multiplication des germes. Tous les tubes sont incubés dans l'étuve à 37 °C pendant 24h (**Denis et al, 2010**).

II.2.2.2.2 Isolement

➤ **Technique (Denis et al, 2010)** : Dans la zone stérile du bec benzène :

-Agiter très bien tous les tubes au BGT (PV, PR, PPQ, PPC) déjà incubés.

-Ensemencer chaque pvt à partir de BGT sur une gélose au sang frais de mouton (gélose base Columbia, 5% sang de mouton) par la méthode des quadrants (figure 08).

▪ **Pour les hémocultures** ; les flacons sont ensuite mis dans une étuve à 37 °C.

➤ **Technique**

- Repiquer également le flacon d'hémoculture avec une seringue.

- Prélever quelques gouttes et les ensemencer sur gélose au sang frais (sang de mouton) par la méthode des quadrants (c'est-à-dire l'ensemencement se fait généralement 24 et / ou 48 h après le prélèvement (**Denis et al, 2010**).

➤ **Technique des quadrants (figure 08)**

- Tracer sur le fond extérieur de la boîte de pétri deux diamètres perpendiculaires séparant la boîte en quatre secteurs.

- Déposer l'échantillon bactérien (hémocultures, et autres pvts) dans le premier quadrant près de bord de la boîte(A).

- Avec la main gauche maintenir entrouverte la boîte et étaler à l'aide d'une pipette pasteur

le prélèvement par stries très serrées (vertes) dans une moitié de quadrant (quadrants 1 et 2) (B).

- Après avoir tourné la boîte 90°, des stries serrées (rouges) sont à nouveau effectuées dans la moitié correspondante aux quadrants 2 et 3(C).

- Le dernier quadrant estensemencé sans rentrer au contact des quadrants précédents (D).

On a donc réalisé un isolement en quadrants dont la richesse en Bactéries diminue du 1^e quadrant au 4^e (Denis et al, 2010).

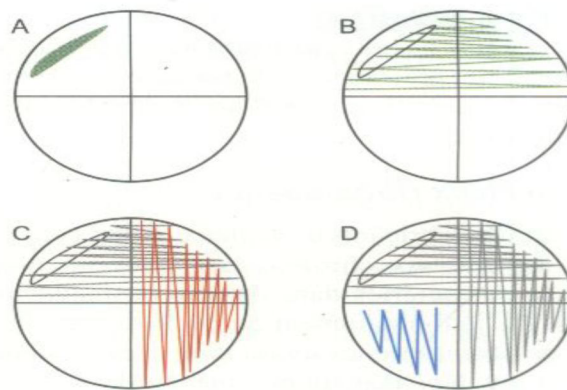


Figure 08 : Isolement des Souches par la méthode des quadrants (Denis et al, 2007).

▪ **Pour le LCR ;** on n'utilise pas le BGT, on l'ensemence directement sur une gélose au sang frais de mouton par la méthode de râteau.

➤ **Technique (Denis et al, 2007).**

-Déposer un volume (50, 100ou 200 microlitres) du LCR par la micropipette.

-Étaler le dépôt à l'aide d'un étaleur « râteau ».

-L'ensemble de LCR est étalé sur la gélose en faisant tourner la boîte.

On met toutes les boites de pétri dans une jarre et on allume une bougie pour fournir une atmosphère riche en CO₂ pendant 24-48h.

Après l'isolement, les souches ont subi une série de repiquage pour s'assurer leur pureté, nous avons adopté la méthode des quadrants.

II.2.3 Tests d'identification de SGB

II.2.3.1 Identification macroscopique

L'identification macroscopique consiste à l'observation à l'œil nu des caractéristiques des colonies bactérienne (la forme, la taille, la couleur, et le type d'hémolyse « α , β ,... »..).

A) **Aspect macroscopique :** Les colonies de SGB apparaissent sous forme de fines colonies transparentes ou grisâtres (Quentin, 2004).

B) Type d'hémolyse : Le *Streptococcus agalactiae* présente une hémolyse totale ou hémolyse bêta sur une gélose au sang frais sous l'atmosphère enrichie en CO² et à 37° de température, se traduisant par un halo clair parfaitement transparent autour de la colonie, correspondant à une lyse totale des hématies (**Roure et Roman, 1996**).

II.2.3.2 Identification microscopique

A) Etat frais

➤ **But**

Cette méthode permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leurs : morphologies, de leurs modes de groupement, de leurs taille, de leur mobilité éventuelle et de la quantité approximative des bactéries (**Fauchère, 1997**).

➤ **Technique (Denis et al, 2007)**

- Déposer une gouttelette de l'eau physiologique sur une lame propre stérile.
- Prélever une trace de culture à l'anse de platine et l'émulsionner dans le liquide.
- Recouvrir d'une lamelle et observer au microscope optique (G×40).

B) Coloration de Gram

➤ **But**

C'est la coloration différentielle systématiquement réalisée lors d'un examen microscopique de bactéries. Elle permet non seulement d'observer la forme des cellules mais aussi de diviser les bactéries en deux grands groupes taxonomiquement différents: bactéries Gram-positives et bactéries Gram-négatives

➤ **Principe**

Lorsque les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane et ensuite soumises à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet tout le cytoplasme des bactéries. Cependant lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seule la paroi des bactéries à Gram négatif, du fait de sa structure particulière (glucido-lipido-protéique) se laisse traversée par l'alcool et entraîne ainsi la décoloration de celles-ci qui seront ultérieurement colorées par la Fuschine. Ces dernières seront appelées bactéries à Gram négatif (**Avril, 1997**).

Mode opératoire (Dénis, 2007)

➤ **Préparation du Frottis**

- Préparer la lame et l'échantillon à examiner comme pour un état frais.
- Etaler la suspension bactérienne en un film mince et régulier sur la lame avec une anse de platine par un mouvement régulier et circulaire (étalement de 2 à 3 cm de diamètre).

- Laisser évaporer à sec soit à l'air libre.
- L'étape de fixation qui suit consiste à tuer les bactéries, à rendre les membranes plus perméables, à fixer les structures sans les altérer et à faire adhérer le frottis à la lame.

En tenant la lame avec une pince écraser trois fois la flamme avec la lame, le frottis est prêt à subir une coloration.

➤ **Réalisation de la coloration**

- Recouvrir la lame de violet de gentiane : une minute, puis rincer à l'eau de robinet.
- Recouvrir de lugol : 1 min.
- Décolorer à l'alcool. La lame est tenue inclinée, la durée de décoloration est variable selon l'épaisseur de frottis. En pratique la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée est devenu clair.
- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau.
- recouvrir la lame de fuchsine diluée 30 secondes à une minute.
- Laver à l'eau et sécher entre deux feuilles de papier filtre puis à la chaleur.
- Examiner à l'immersion avec l'objectif 100.

Les SGB apparaissent en violette foncé : se sont des cocci Gram positif qui se regroupent en courtes chaînettes (Dénis, 2007).

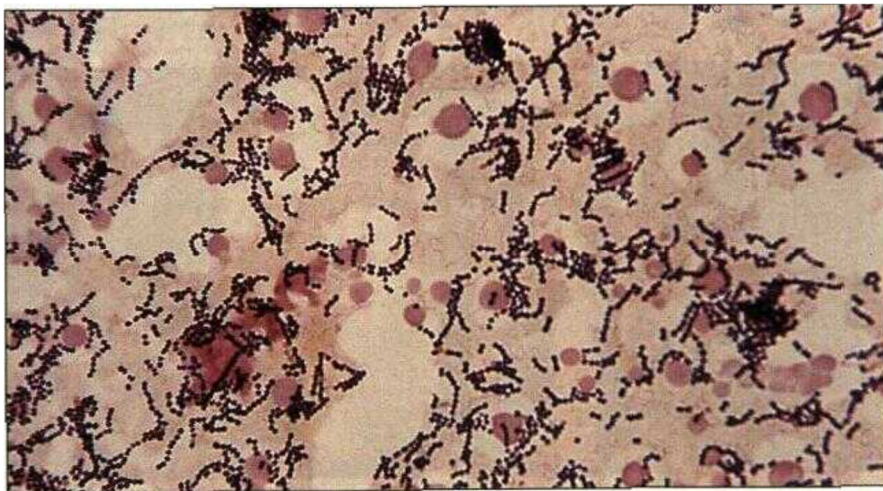


Figure 09 : Coloration de Gram montrant des cocci à Gram positif de *Streptococcus agalactiae* dans une hémoculture de nouveau-né (Hart et Shears, 1997).

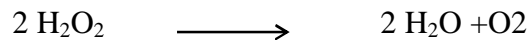
II.2.3.3 Identification biochimique (Leyral et Joffin, 1995)

Recherche de la catalase

➤ **Principe**

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (Aérobie strict et Aérobie-anaérobie facultatif) qui peuvent détruire les peroxydes. En

présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène selon la réaction suivante:



La plupart des microorganismes aérobies possèdent une catalase, en particulier les bacilles Gram négatifs aérobies. Son absence est donc un critère d'identification intéressant. Par exemple, parmi les coques Gram + aérobies, seuls les *Streptococcaceae* ont une catalase négative. *Lactobacillus* et *Erysipelothrix* sont les seuls groupes de bacilles Gram + aérobies non sporulés dépourvus de catalase.

➤ **Technique**

- Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée.
- Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

➤ **Lecture**

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène (effervescence).

La souche de *Streptococcus agalactiae* est dépourvue de catalase (catalase négative).

NB : il est conseillé de prélever les colonies sans la gélose (à partir d'une gélose au sang car le sang possède une activité catalasique, la présence de sang pourrait ainsi provoquer une réaction faussement positive).

II.2.3.4 Identification sérologique

II.2.3.4.1 Sérogroupage de streptocoques β hémolytique

➤ **Principe**

Le polyoside C (glucide complexe) est un antigène de la paroi de la bactérie. Leur nature va permettre de classer la bactérie dans l'un des nombreux groupes (A, B, C, D, K, L, M, ...). Pour déterminer à quel groupe appartient la bactérie, on fait réagir des anticorps connus avec le polyoside C à identifier.

La formation de complexes anticorps-antigènes signe la reconnaissance par l'anticorps du type du polyoside C (les antigènes sont portés par des billes de latex sensibilisées).

➤ **Technique (Dénis, 2007)**

***Extraction de la substance C :** dans un tube ;

- Placer 0.4 ml d'enzyme d'extraction qui va exposer le polyoside C caché dans les couches de la paroi.

- Prélever 2 à 5 colonies avec une anse que l'on émulsionne dans la solution enzymatique.

Le tout est placé pendant 10 à 30 minutes dans l'étuve à 37°C.

***Identification de groupe de l'extrait**

- Déposer verticalement une goutte de sérum d'agglutination anti B et une goutte de la solution d'extraction juxtaposée dans le cercle de la carte d'agglutination.
- Mélanger les gouttes avec un bâtonnet qui est jeté après l'utilisation.
- Donner un mouvement orbital pendant une minute maximum pour faciliter une éventuelle agglutination (l'agglutination doit apparaître normalement en 30 secondes).

***Lecture**

- Si le contenu du cercle reste sous forme d'une suspension homogène brune : aucune agglutination n'apparaît, la réaction sera négative.
- Si le contenu apparaît sous forme d'agglutination rouge au fond vert : la réaction de *Streptococcus agalactiae* sera positive, elle se traduit par l'agglutination des particules de latex avec les antigènes de l'extrait.

II.2.3.4.2 Camp-test

Le Camp-test contribue à l'identification des *Streptococcus agalactiae* aux autres streptocoques.

Il doit son nom aux initiales des chercheurs qui ont mis au point la technique: Christie-Atkins-Munch-Pertersen.

➤ **Principe**

Les SGB donnent habituellement, sur gélose au sang, des colonies entourées d'une zone étroite d'hémolyse à bords flous. Cette hémolyse est, seulement pour les hématies de mouton, exaltée par la présence d'une toxine staphylococcique (Newton, 2005).

➤ **Technique**

- Faire une strie (à l'aide d'un écouvillon) de *Staphylococcus aureus* productrice de toxine staphylococcique verticalement vers le bas au centre de gélose au sang de mouton (on prend le *Staphylococcus aureus* à partir d'une suspension de quelques colonies de culture pure de 24 h sur un milieu d'isolement par une pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique).
- Faire une strie (à l'aide d'un écouvillon) de la souche de streptocoque à tester s'arrêtant à 5 mm de la strie de *Staphylococcus aureus* (on prend le streptocoque à partir d'une suspension de quelques colonies de culture pure de 24 h sur une gélose au sang de mouton par une pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique).

- Incuber 24h en aérobiose.
- Observer (**Newton, 2005**).

➤ **Lecture**

Un Camp-test positif se traduit par l'observation d'une zone d'hémolyse complète avec un aspect en écaille dans la zone d'intersection des deux stries (au point de rencontre des deux substances): il s'agit d'un *streptococcus agalactiae* (**avril, 2002**).

II. 2.4 Antibiogramme (AARN, 2011)

L'antibiogramme est un examen bactériologique qui permettant d'apprécier la sensibilité d'une bactérie prélevée chez un malade vis-à-vis de divers antibiotiques (**Merlet, 2004**).

➤ **Principe**

La technique des disques consiste à utiliser des disques imprégnés des différents antibiotiques à tester, les disques sont déposés à la surface de gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactérie croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration suffisante pour inhiber leur croissance.

Autours des disques on observe une zone circulaire indemne de colonies bactériennes appelée : zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. la souche étudiée peut alors être classée en : sensible(S), intermédiaire(I), ou résistante(R), en comparant le diamètre d'inhibition à des diamètres critiques établis sur des données pharmacologiques et critiques par le comité français de l'antibiogramme (annexe 13).

➤ **Milieu pour antibiogramme**

L'ensemencement se fait sur Gélose Muller Hinton additionné de 5 % de sang de mouton, coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm (les géloses sont séchées avant l'emploi).

➤ **Préparation de l'inoculum :**

- _ A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- _ Bien décharger l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- _ Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

➤ **Ensemencement**

- _ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- _ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- _ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- _ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- _ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- _ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

➤ **Application des disques d'antibiotiques**

- _ Il est préférable de ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.
- _ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

➤ **Conditions d'incubation**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour la bactérie (20 à 24 h à 37°C sous une atmosphère enrichie en CO₂).

➤ **Lecture**

- _ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition de croissance et pas celles de l'hémolyse à l'aide d'un pied à coulisse métallique à l'extérieur de la boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.
- _ Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans l'annexe 13.
- _ Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

II. 2.5 Méthode statistique utilisée

Les résultats de 60 femmes ont été exploités statistiquement. Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse descriptive pour toutes les variables recueillies, les variables quantitatives ont été présentées sous forme de moyennes, et les variables qualitatives sous forme de pourcentages. Dans un deuxième temps une analyse comparative a été réalisée à la recherche de facteurs associés au portage du streptocoque B, un test de **Fischer exact** était utilisé pour la comparaison des moyennes et la comparaison des pourcentages, Cette analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Epi Info version 6, où le degré de signification a été fixé à 5%.



III.1 Résultats

Durant la période de notre étude prospective (10 Mars jusqu'au 31 Août 2013), nous avons réalisé 60 PV, 60 PR, 6 PPQ des nnés, 3 hémocultures, 2 LCR et 6 carottes placentaires, pour la recherche de *Streptococcus agalactiae*.

III.1.1 Caractéristiques des souches de *Streptococcus agalactiae* isolées

Les caractères généraux de *Streptococcus agalactiae* isolées sont mentionnées dans le tableau III.

Tableau III : Caractéristiques des souches de *Streptococcus agalactiae* isolées.

<i>Caractéristiques de SGB</i>					
<i>Caractères macroscopiques</i>		<i>Caractères microscopiques</i>		<i>Caractère biochimique</i>	<i>Caractère sérologique</i>
Aspect	Hémolyse	Etat frais	Coloration de Gram	Test de catalase	Classification de Lancefield
Colonies fines, transparentes	β -hémolytique	Cocci, immobiles, regroupées en chaînettes	Cocci à Gram + regroupées en chaînettes	Catalase -	SGB

Après 24 h d'incubation de SGB sur une gélose au sang frais (sang de mouton) à 37 °C, les souches sont apparues sous forme de fines colonies transparentes entourées par un halo clair parfaitement transparent (hémolyse bêta), se sont des cocci à Gram positives regroupées en courtes chaînettes, immobiles et dépourvues de catalase (catalase -).

III .1.2 Chez les femmes enceintes

III .1.2.1 Fréquence des prélèvements

Parmi les soixante femmes dépistées, 6 avaient un PV positif au SGB ce qui correspond à un taux de portage de 10 % (figure 10).

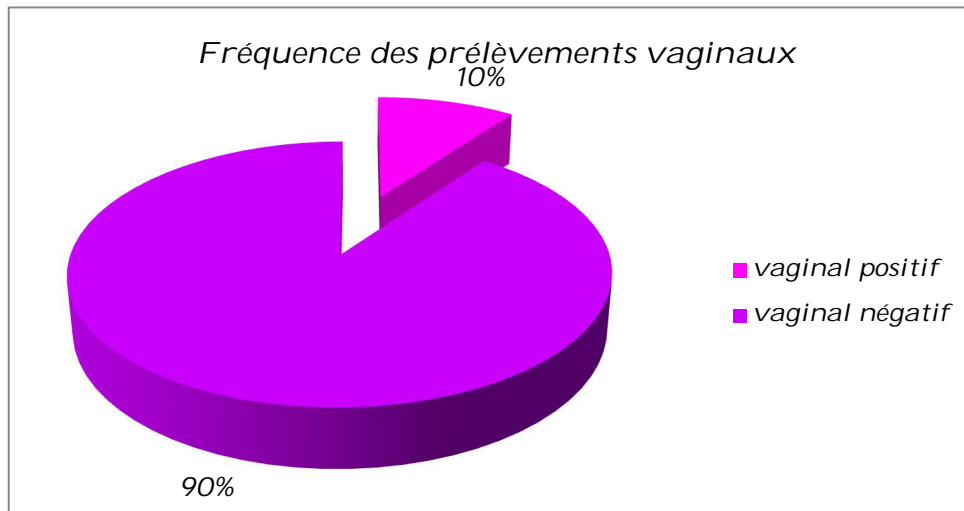


Figure 10 : Fréquence des prélèvements vaginaux positifs.

Parmi les soixante femmes dépistées, 13 avaient un prélèvement rectal positif au SGB ce qui correspond à un taux de portage de 22 % (figure 11).

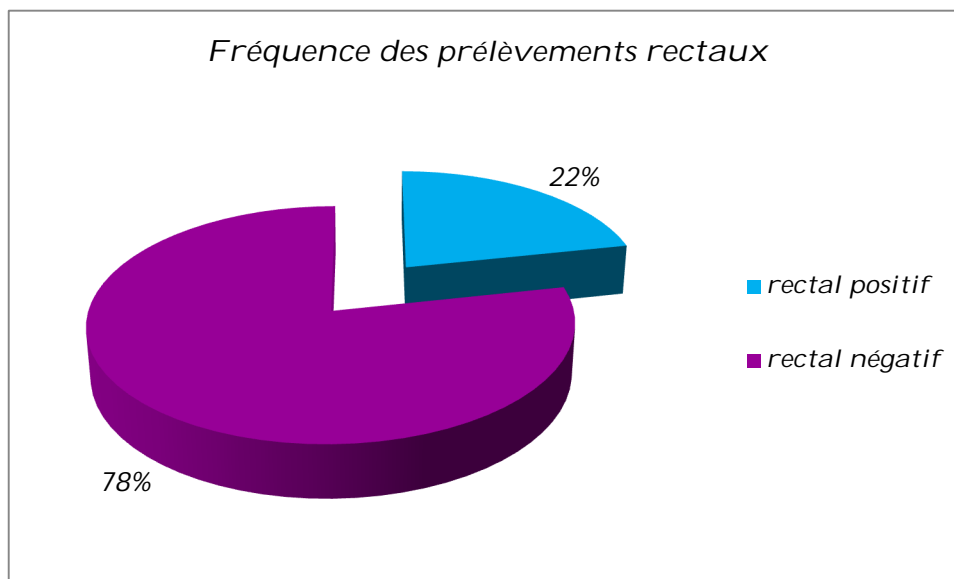


Figure 11: Fréquence des prélèvements rectaux positifs.

Dans quatre cas, le PV ainsi que le prélèvement rectal sont positifs. Dans deux cas, uniquement le PV est positif et dans neuf cas, uniquement le PR est positif (figure 12). La fréquence des PR positifs associés aux PV positifs uniquement, chez les patientes est de 25%.

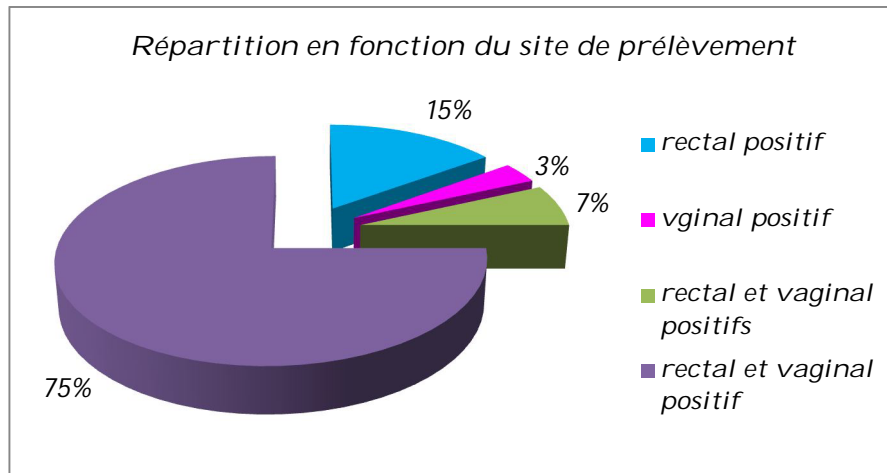


Figure 12 : Répartition en fonction du site de prélèvement.

III .1.2.2 Répartition des prélèvements vaginaux en fonction d'âge

La plupart (6,67%) des PV positifs sont provenant des femmes enceintes entre 21 et 30 ans, suivis de 3,33% des PV positifs par des femmes âgées de 31 à 40 ans, aucun PV positif n'est provenu par les patientes de plus de 41 ans. Ainsi pour les PV négatifs, la plupart (46,67%) sont provenus par des femmes enceintes entre 21 et 30 ans (figure 13).

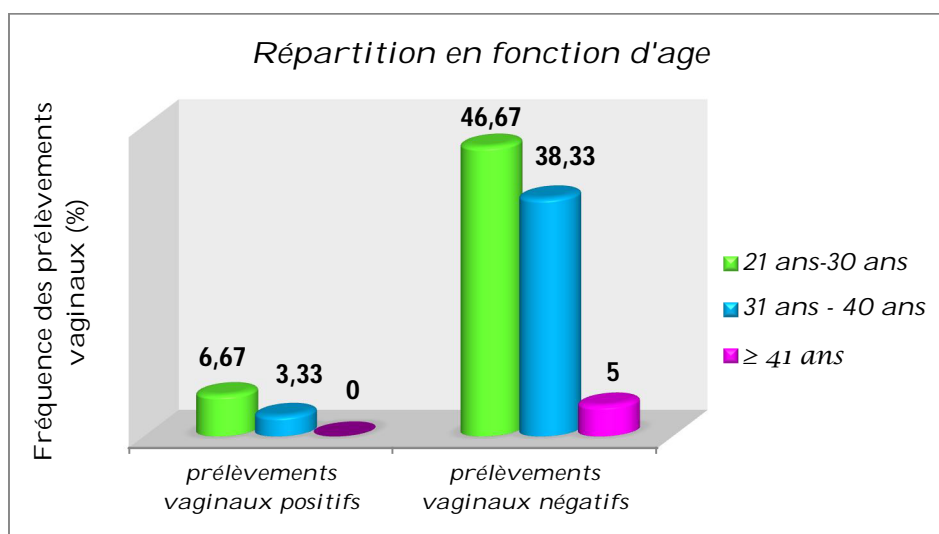


Figure 13 : Répartition des prélèvements vaginaux en fonction d'âge.

L'âge moyen de toute les patientes dépistées est de 30,66 (21-42 ans), l'âge moyen des patientes ayant un PV positif est de 27,83(21 – 40), et celui des patientes ayant un PV négatif est de 29,56 (21– 42). Pas de différence significative entre les deux groupes, en terme d'âge ($p=0,45$).

III .1.2.3 Répartition des prélèvements vaginaux selon la gestité et la parité

La majorité (3,33%) des patientes qui ont des PV positifs sont dans leur première grossesse, ainsi chez les patientes avec des PV négatifs (43,33%), la gestité moyenne de toutes les patientes est de 2,25 (1 – 8).Chez celles dont le PV est positif est de 2,66 (1 – 5), et celles dont le PV est négatif est de 2,20 (1 - 6) (figure 14).

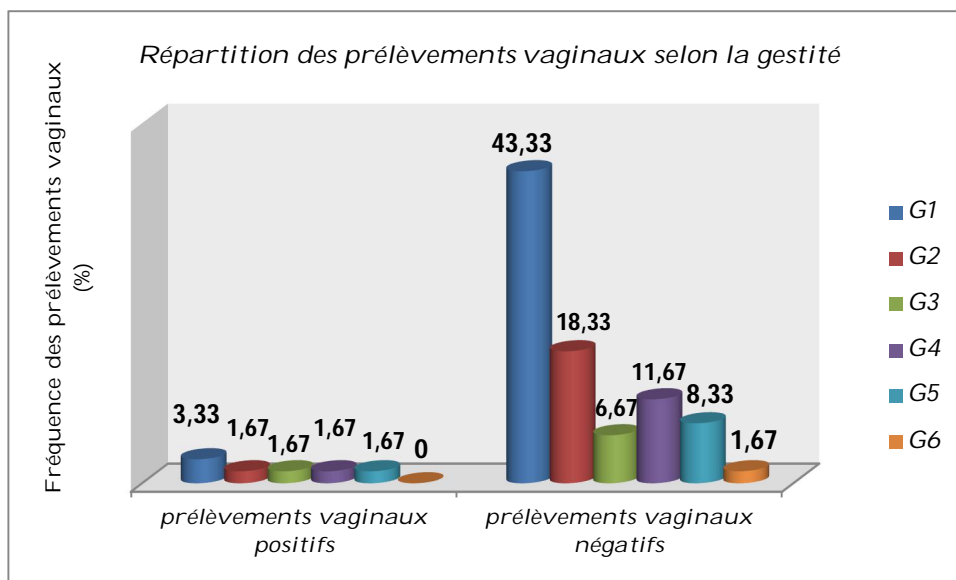


Figure 14 : Répartition des prélèvements vaginaux selon la gestité.

La plupart (5%) des patientes qui ont des PV positifs sont des multipares, 3,33% sont des primipares et 1,67% sont des nullipares. Chez celles dont le PV est négatif la majorité (40%) sont des primipares.

La parité moyenne des 60 patientes est de 0,96 (0 – 6), elle est de 2 (0 – 5) chez les patientes avec un PV positif et de 1,57(0 – 6) chez les patientes avec un PV négatif. Pas de différence significative entre les deux groupes, en terme de parité ($p=0,52$) (figure 15).

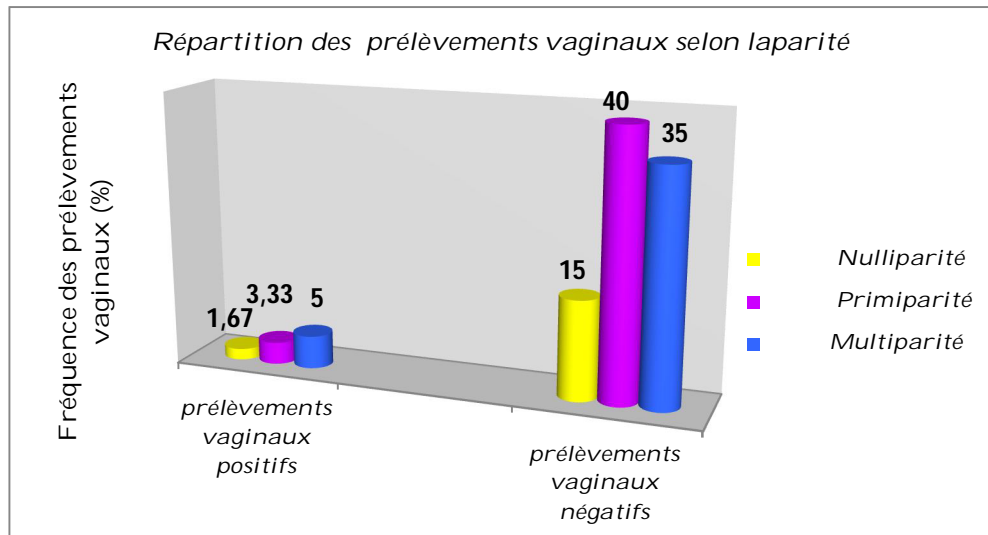


Figure 15 : Répartition des prélèvements vaginaux selon la parité.

III .1.2.4 Répartition des prélèvements vaginaux selon le niveau d'étude

La majorité des femmes ont un niveau d'étude secondaire, donc sur un total de 61,67% des patientes, 5% sont avec un PV positif et 56,67% avec un PV négatif. Statistiquement pas de différence significative entre les deux groupes en terme de niveau d'étude ($p=0,42$) (figure 16).

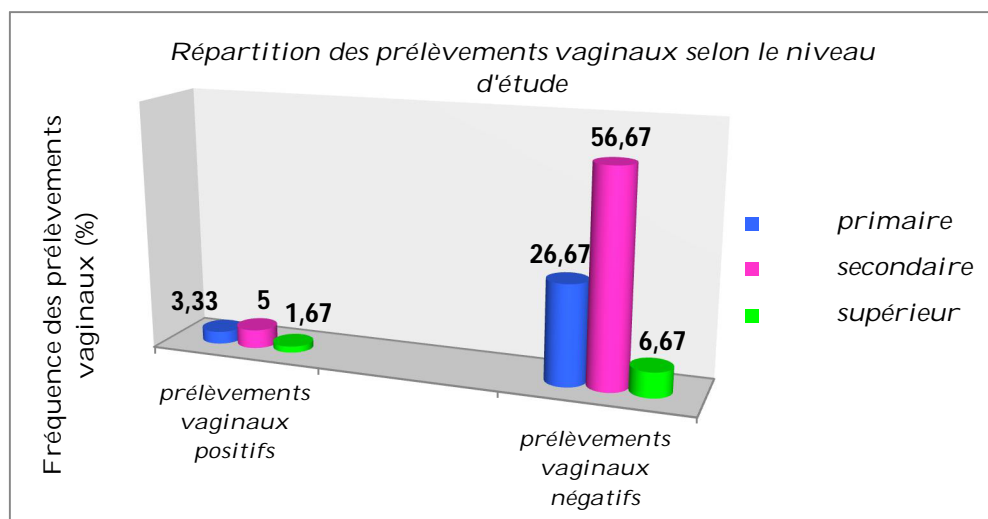


Figure 16 : Répartition des prélèvements vaginaux selon le niveau d'étude.

III .1.2.5 Répartition des prélèvements vaginaux selon la profession

On a trouvé 61,67% patientes sans profession dont 6,67% avec un PV positif et 55% avec un PV négatif et 38,33% patientes sont avec profession dont 3,33% ont un PV

positif, et 35% avec un PV négatif, sans différence statistiquement significative entre les deux groupes en terme de profession ($p= 0,5$) (figure 17).

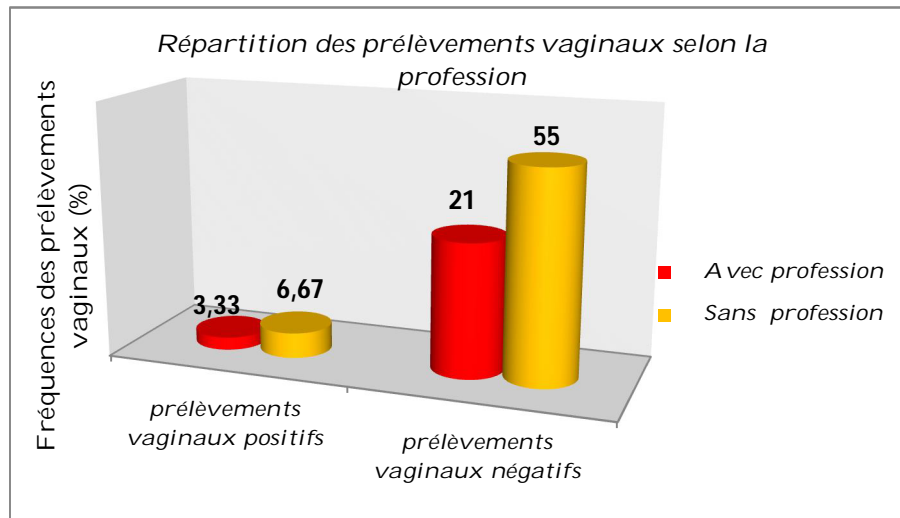


Figure 17 : Répartition des prélèvements vaginaux selon la profession.

III.1.2.6 Répartition des prélèvements vaginaux selon le niveau socio-économique

Toutes les patientes ont un niveau socio-économique moyen.

III .1.2.7 Répartition des prélèvements vaginaux selon les antécédents médicaux

1. Fausses couches : L'antécédent de fausse couche est retrouvé chez 66,66% des patientes: 8,33% des patientes avec un PV positif et 58,33% avec un PV négatif.

2. Diabète : 5% des patientes ont un antécédent de diabète, dont 1,67% avec un PV positif, et 3,33% avec un PV négatif.

3. Menace d'accouchement prématuré : 6,67% des patientes ont un antécédent de MAP, dont 1,67% avec un PV positif, et 5% avec un PV négatif.

4. Tabagisme : Aucune de nos patientes n'est connue tabagique. Par contre, 15% rapportent la notion de tabagisme passif dont 3,33% avec un PV positif, et 11,67% avec un PV négatif.

5. Obésité : 10% des patientes ont un antécédent d'obésité, dont 1,67% avec un PV positif, et 8,33% avec un PV négatif.

6. Autres : Aucune de 60 patientes n'a rapporté la notion d'interruption volontaire de grossesse ou de mort perpartum, ni de pyélonéphrite gravidique, de GEU ou de portage de streptocoque du groupe B au cours d'une grossesse antérieure, ni portage de VIH.

Statistiquement, pas de différence significative entre les deux groupes en terme d'antécédents médicaux ($p=0,21$) (figure 18).

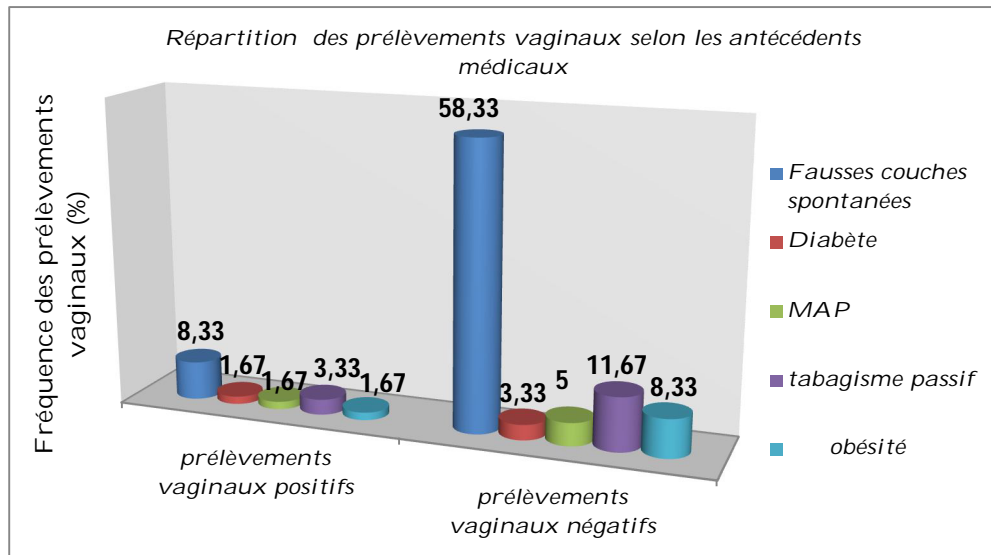


Figure 18 : Répartition des prélèvements vaginaux selon les antécédents médicaux.

III .1.2.8 Répartition des prélèvements vaginaux selon les paramètres inhérents à la grossesse actuelle

1. Age gestationnel

La moyen d'âge gestationnel des 60 patientes est de 38,5 (36SA - 41 SA), entre 36 SA et 38 SA on a trouvé 1,67% des femmes avec un PV positif et 41,67% avec un PV négatif, et entre 39 SA et 41SA on a trouvé 8,33% avec PV positif et 48,33 % avec PV négatif.

Statistiquement, pas de différence significative entre les deux groupes en terme d'âge gestationnel ($p=0,17$) (figure 19).

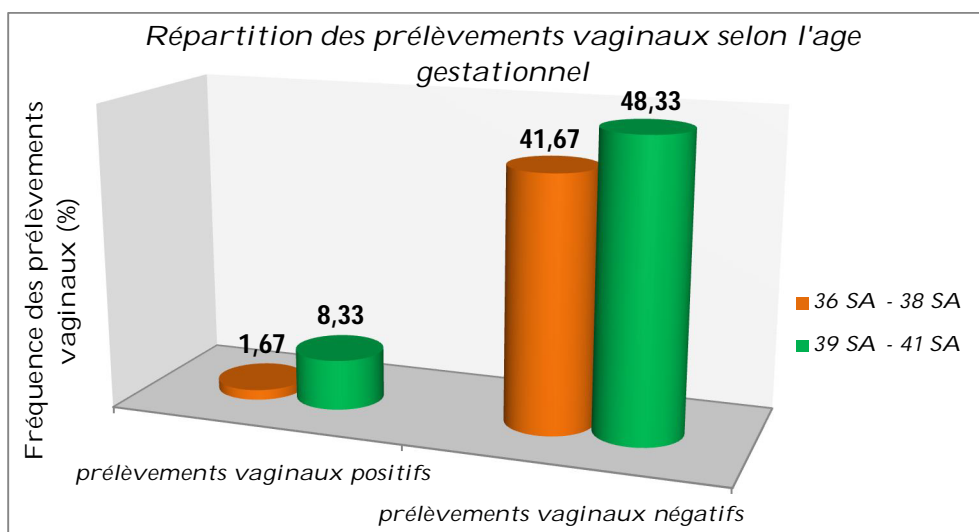


Figure 19 : Répartition des prélèvements vaginaux selon l'âge gestationnel.

2. Menace d'accouchement prématuré

La notion de MAP est retrouvée chez une patiente (1,67%) avec PV positif et deux (3,33%) avec PV négatif.

3. Diabète gestationnel

Une seule patiente (1,67%) présente un diabète gestationnel au cours de la grossesse actuelle.

4. Episode fébrile > à 38,5 °C

Cinq patientes (8,33%) présente un épisode fébrile > à 38,5 °C dont une seule (1,67%) avec un PV positif et 4 (6,67%) avec PV négatif. Pas de différence significative entre les deux groupes en terme de fièvre ($p=0,42$).

Aucune des patientes n'a présenté de pyélonéphrite aigue gravidique ni des infections uro-génitales, ni de grossesse gémellaire au cours de la grossesse actuelle (figure 20).

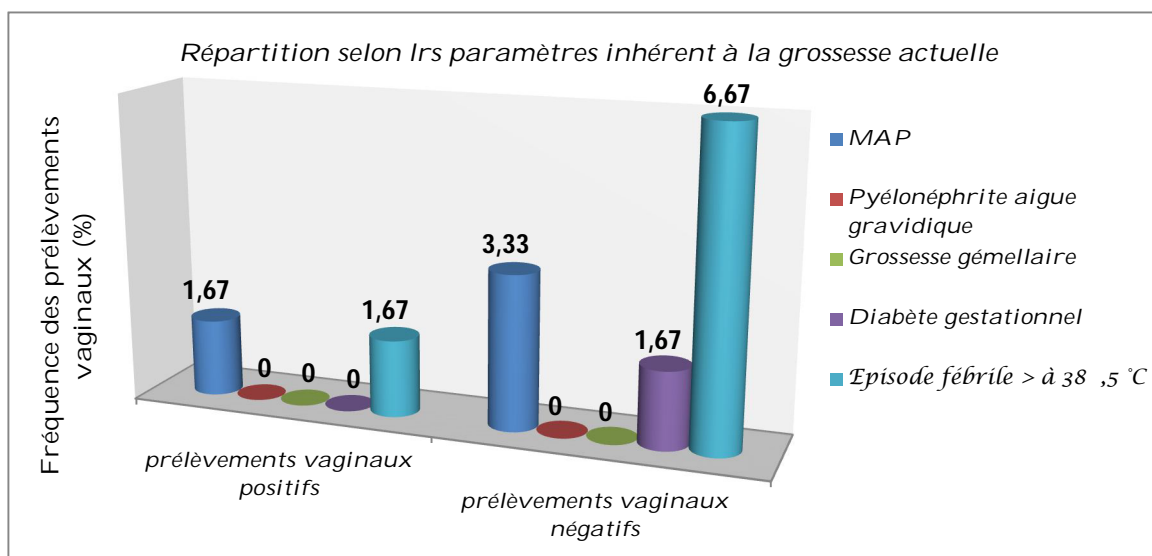


Figure 20 : Répartition des prélèvements vaginaux selon les paramètres inhérents à la grossesse actuelle.

III.1.2.9 Les paramètres inhérents au travail et à l'accouchement

Dans cette phase, on a suivi que les six patientes avec PV positif, car presque la moitié des femmes ont accouché en dehors de l'EPH de Ziralda.

1. Rupture prématurée des membranes: la RPM s'est produite chez une seule parturiente parmi les six avec une durée de 19 heures (elle est mise sous antibiothérapie).

2. Fièvre : une seule parturiente parmi les six a présenté une fièvre à 38,5 °C au cours du travail. Son nouveau-né a été hospitalisé en néonatalogie pour suspicion d'infection

maternofoetale avec issue favorable sous antibiothérapie.

3. Voie d'accouchement : toutes les six parturientes ont accouché par voie basse.

4. Antibiothérapie : trois femmes seulement sont mises sous antibiothérapie, parmi elles la parturiente qui présente une RPM. Les trois parturientes restantes malheureusement n'étaient pas mises sous antibiothérapie, car elles ont accouché avant le reçu des résultats finals.

III .1.3 Chez les nouveaux nés

III .1.3.1 Fréquence des nouveaux-nés sains, colonisés, infectés

On a trouvé 3 NNés sains, un seul est colonisé et 2 sont infectés.

III .1.3.3 Résultat des prélèvements bactériologiques périphériques

Trois NNés parmi les six présentent des PPQ positifs à SGB, avec absence totale des souches dans les prélèvements placentaires.

Tableau IV : Résultat des prélèvements périphériques.

	<i>Prélèvements périphériques positifs</i>	<i>Carottes placentaires positives</i>
<i>Nouveaux-nés</i>	3/6	0/6

III .1.3.4 Résultat des hémocultures et des ponctions lombaires

Deux NNés parmi les trois qui ont des PPQ positifs ont des hémocultures positives ; l'un des deux avec un LCR positif, ce sont les deux NNés infectés.

Tableau V : Résultat des hémocultures et des ponctions lombaires.

	<i>Hémocultures positives</i>	<i>ponctions lombaires positives</i>
<i>Nouveaux-nés</i>	2/3	1/2

III .1.3.5 Signes cliniques des nouveaux nés

Les trois NNés sains et le NNé colonisé n'ont été présentés aucune des signes cliniques, par contre, un des deux NNés infectés présente une mauvaise adaptation néonatale, et une septicémie. Le deuxième nné avec un LCR positif présente une mauvaise adaptation néonatale, une altération de l'état général et bactériémie transitoire asymptomatique qu'elle est s'étendue à la méningite purulente.

Aucun des NNés n'ont été présenté des ostéoarthrites, signes neurologiques, pneumonie, ni des anomalies du rythme cardiaque fœtal.

Tableau VI : Résultat des signes cliniques.

<i>signes cliniques</i>	<i>NNés infectés</i>	<i>NNés colonisés</i>	<i>NNés sains</i>
<i>Une altération de l'état général</i>	1	0	0
<i>Bactériémie transitoire asymptomatique</i>	1	0	0
<i>Septicémie</i>	1	0	0
<i>Méningite purulente</i>	1	0	0
<i>Ostéoarthrites</i>	0	0	0
<i>Signes neurologiques</i>	0	0	0
<i>Pneumonie</i>	0	0	0
<i>Des anomalies du rythme cardiaque fœtal</i>	0	0	0
<i>Une mauvaise adaptation néonatale</i>	2	0	0

III.1.3.6 Répartition des souches de SGB isolées selon la sensibilité et la résistance aux antibiotiques.

Toutes les souches de *Streptococcus agalactiae* (100%) isolées ont présenté une sensibilité de haut niveau aux gentamycine, rifampicine, vancomycine et aux pristinaamycine. Pour l'érythromycine, on a trouvé 5 souches avec une sensibilité de haut niveau (83,33%), et une souche avec une résistance de bas niveau (16,67%).

Malheureusement, on n'a que ces ATB dans le laboratoire d'EPH de Ziralda.

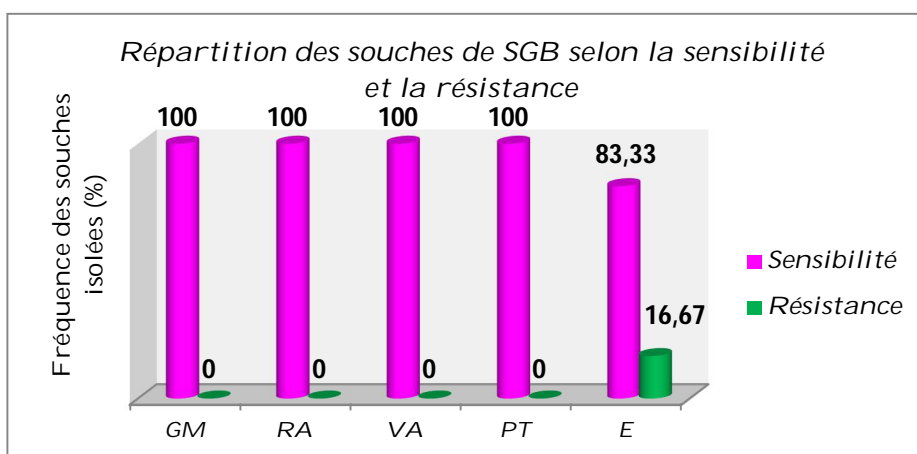


Figure 21: Répartition des souches de SGB isolées selon la sensibilité et la résistance aux antibiotiques.

III.2 Discussion

Durant la période notre étude prospective (10 Mars jusqu'au 31 Août 2013). Soixante femmes enceintes à partir de 36 SA ont été incluses pour la recherche de SGB responsable des infections maternofoetale. Au niveau des salles de consultation, d'admission, et d'accouchement de l'EPH de Zeralda.

Six cas révélés positifs correspondant au *Streptococcus agalactiae*, avec un taux de portage uniquement vaginal de 10%, 22% comme portage rectal, et 25% comme un portage recto-vaginal.

III.2 .1 Taux de portage

La colonisation vaginale par le SGB est globalement de 5 à 35 %. En effet, ce taux varie dans de larges proportions selon le pays, les sites du prélèvement, le choix du moment du dépistage, la population étudiée et la sensibilité de la technique bactériologique d'isolement utilisée (Schuchat et Wenger, 1994).

La colonisation est instable et le plus souvent asymptomatique. Aux Emirats-Unies (Amin et al, 2002), on estime à 10,1% le taux de femmes enceintes porteuses du SGB. En France (ANAES, 2003), ont rapporté un taux de 10%. Aux Etats-Unis (Yancey et al, 1996), ce portage a été estimé de 20 à 30% des femmes en fin de grossesse. En Canada la colonisation maternelle varie en fonction des séries de 11 à 19,5% (Money et al ,2004). Ainsi dans une étude en Tunisie sur 294 femmes enceintes dépistées, le taux de portage trouvé est 12,92% (Jerbi et al ,2007), en Afrique tropicale (Balaka et al, 2005) est de 3,9%, et en Egypte (Shabayek et al, 2009) est de 25,3%.

Les études réalisées en Amérique du Nord comportent l'association d'un prélèvement rectal systématique expliquant un portage régulièrement supérieur à 18 % (Benitz et al, 1999). Ainsi, le portage rapporté par des équipes françaises varie de 6,9 (Chhuy et al, 2005) à 14,3 % (Voluménie et al, 2001) pour le prélèvement vaginal seul.

On ne peut pas comparer les résultats de littératures avec nos résultats, car le nombre de notre patientes est plus petit que le nombre de leur patientes.

Certains auteurs pensent que toutes les femmes enceintes sont virtuellement colonisées à un moment ou un autre au cours de la grossesse (Gibbs et al, 2004).

Les femmes deviennent colonisées par des SGB issus du tractus gastro-intestinal, lequel en constitue le réservoir naturel. Voilà pourquoi les SGB peuvent rarement être éliminés du tractus génital inférieur (Wood et Dillon, 1981 ; Persson et al, 1986).

Le réservoir du germe est le tube digestif et plus précisément sa partie distale (rectum). Le mode de contamination est probablement lié à l'hygiène individuelle et se fait par contiguïté comme en témoignent les taux dégressifs de colonisation du rectum à la vulve, au vagin et au col (**Baker et al, 1983**).

Dans notre résultats, le taux de portage uniquement rectal est de 15% >10% (portage vaginal), ce qui confirme que l'origine de SGB est le rectum. Aussi les PV positifs ont un taux de 10 %, et ça confirme que le deuxième réservoir de SGB est le vagin : c'est le groupe 2 de la flore de Döderlein où se trouvent les hôtes usuels de la flore digestive (**Leblanc, 2008 ; Balaka, 2005; Quentin, 1997**).

III.2 .2 Facteurs de risque

➤ Tranches d'âge

Jerbi et al (2007), dans une étude réalisée sur 294 patientes, ne rapportent pas d'association significative de l'âge maternel au portage du SGB ($p=0,32$). Une étude de plus grande envergure incluant 1702 patientes n'a pas retrouvé elle aussi de relation entre âge et portage du SGB (**Arijaan et al, 2008**). Même résultat avec notre série, l'âge n'est pas considéré comme facteur de portage ($p=0,45$).

➤ Gestité / Parité

La parité ou la gestité n'ont pas été considéré par la plupart des auteurs comme facteurs de risque de portage du SGB (**Jaureguy et al, 2003 ; Jerbi et al, 2007 ; Arijaan et al, 2006 ; El Beitune, 2006**). Le même résultat a été retrouvé dans notre étude ($p=0,52$). Néanmoins, d'autres études de **Ferjani et al (2006)**, montrent que le risque de portage augmente significativement chez les primipares par rapport aux multipares.

➤ Niveau d'étude et profession

Dans une étude américaine comparative portant sur 40459 femmes colonisées comparées à 84268 témoins, le haut niveau d'étude était significativement associé au portage du SGB (**Stapleton et al, 2005**).

Dans notre série, ce facteur n'est pas associé significativement ($p=0,42$).

Le portage chez le personnel soignant (exemple de profession) en contact direct avec les patients était significativement supérieur par rapport au personnel soignant sans contact avec les patients suggérant que l'exposition directe aux patients peut être un mode

d'inoculation (Stapleton et al, 2005). Dans notre étude, la profession n'est pas associée significativement ($p=0,5$).

➤ *Niveau socioéconomique*

Pour certains auteurs, les revenus financiers sont significativement associés au portage du SGB (Stapleton et al, 2005 ; Grimwood et al, 2002). Pour d'autres, ils ne le sont pas (Arijaan et al, 2008). Dans notre étude le niveau socioéconomique n'est pas considéré comme facteur de portage de SGB, il est le même chez toutes les patientes.

➤ *Antécédents médicaux*

-Jaureguy et al (2003) ont retrouvé que les antécédents de portage antérieur du SGB, d'infection néonatale, et l'antécédent de MAP sont des facteurs à la limite de la signification (respectivement $p = 0,09$; $p = 0,07$; $p = 0,07$)

-les antécédents d'interruption volontaire de grossesse ($p=0,16$), de GEU ($p=0,34$), de mort fœtale in utero ($p=0,61$) et de pyélonéphrite ($p=1,00$) n'étaient pas prédictifs de portage du SGB.

Dans notre étude, aucune patiente ne présente ces antécédents.

-Dans l'étude de Jerbi (Jerbi et al, 2007), l'antécédent de fausse(s) couche(s) spontanée(s) est apparu comme facteur de ce portage ($p= 0,02$). Pour d'autres auteurs ce facteur n'est pas retrouvé (Jaureguy et al, 2003 ; Arijaan et al, 2006). Dans notre étude, ce facteur n'a pas été retrouvé associé de façon significative au portage du SGB.

-Le diabète a été considéré pendant longtemps comme un facteur de risque de colonisation maternelle par le SGB (Schauf et Hlaing, 1975 ; Ferreira, 2007), car on pourrait supposer une augmentation du taux de portage vaginal du SGB chez les parturientes diabétiques et ce, d'autant plus que la grossesse, elle-même, représente un état d'immunodéficience (Trentesaux, 2006).

La série la plus importante a porté sur 70 femmes enceintes diabétiques et 980 femmes enceintes témoins, les auteurs de cette étude ont montré que le taux de colonisation par le SGB était plus élevé chez les femmes diabétiques (20 % contre 10,9% $p<0,05$) (Matorras et al, 1988). Une autre étude sur 105 femmes diabétiques et 300 femmes enceintes

témoins, les auteurs de cette étude ont montré que le taux de colonisation par le SGB était plus élevé chez les femmes diabétiques (43,6 % contre 22,7 % $p < 0,05$) (**Ramos et al, 1997**). Par contre Renee et al (**Renee et al, 2006**), dans leur étude en 2005 sur 4,2 % femmes enceintes diabétiques à SGB positifs contre 4,3 % des témoins ont montré que le diabète n'est pas un facteur de portage ($p > 0,05$). Dans notre résultat le diabète n'est pas un facteur de portage.

-Le tabagisme a été considéré comme facteur prédictif de portage du SGB ($p = 0,012$) par certains auteurs (**Terry et al, 1999**), **Elbeitune (2006)** et **Liao et al (2002)** ne trouvent pas de différence significative entre les patientes tabagiques ou non.

Dans notre série, seule la notion de tabagisme passif a été retrouvée sans constituer un facteur de portage.

-Dans la plus large étude de la littérature, **Stapleton et al (2005)** ont montré que le taux de colonisation était plus élevé chez les femmes obèses. Par contre, dans notre étude, aucune relation entre l'obésité et le portage n'a été retrouvée.

-Dans une étude brésilienne, le taux de portage était comparable entre les patientes VIH+ et VIH- suggérant que le portage est indépendant du statut sérologique et du degré d'immunodépression (**El Beitune, 2006**).

Aucun cas de VIH+ n'a été retrouvé dans notre étude.

Dans notre série, aucun des antécédents précités n'a été associé de façon significative au portage du SGB ($p = 0,21$).

➤ *Paramètres inhérent à la grossesse actuelle*

-**Yancey et al (1996)** ont retrouvé que l'âge gestationnel, au cours duquel le prélèvement est réalisé, constitue un facteur influençant le taux de portage du SGB. Par contre dans notre étude l'âge gestationnel n'est pas considéré comme un facteur de risque ($p = 0,17$).

-Pour le diabète gestationnel : Piper (**Piper et al, 1999**) conclut, au terme de son étude comparant 446 patientes porteuses de diabète gestationnel à 1046 patientes non diabétiques, que le diabète gestationnel ne constitue pas un facteur de risque de colonisation par le SGB. L'étude brésilienne (**El Beitune, 2006**) va dans le même sens.

Ainsi dans notre étude, il ne constitue pas un facteur de risque, car on a trouvé une seule

patiente non porteuse de SGB présente un diabète gestationnel au cours de la grossesse.

- Jerbi (**Jerbi et al, 2007**) a retrouvé que le portage du SGB était associé de manière significative à la survenue d'épisode fébrile (fièvre $>38,5^{\circ}\text{C}$) au cours du travail ($p = 0,03$).

Dans notre étude, la fièvre n'a été pas associée au portage de SGB ($p=0,42$).

-Jerbi a recensé sept cas de grossesse gémellaire qui restent non significatifs.

Aucune grossesse gémellaire dans notre étude, ne nous permet pas de conclure.

Aucun des facteurs étudiés n'a été associé significativement au portage de SGB, peut-être à cause du nombre limité des patientes.

III.2 .3 Chez les nouveaux-nés

50 à 60 % des NNés de femmes porteuses de SGB sont contaminé après la naissance, et pourtant seulement environ 2 % d'entre eux font une infection néonatale (**Sicard, 1998**).

Dans notre étude, on a trouvé 1 seul NNés de femme porteuse de SGB contaminés après la naissance, et 2 avec une infection néonatale, on ne peut rien conclure à cause de notre plus petit échantillon.

En cas de portage vaginal, antécédent de portage vaginal ou d'antécédent d'infection materno-foetale à streptocoque B, le deuxième volet de prévention passe alors par la mise en place d'une antibioprofylaxie chez la mère. La mère reçoit une antibiothérapie par l'amoxicilline dès l'entrée en travail ou dès la rupture de la poche des eaux. Ces actions ont pour but de diminuer le taux d'infection néonatale à streptocoques B (**ANAES, 2001 ; Goffinet, 1999 ; Djendoubi, 2008**).

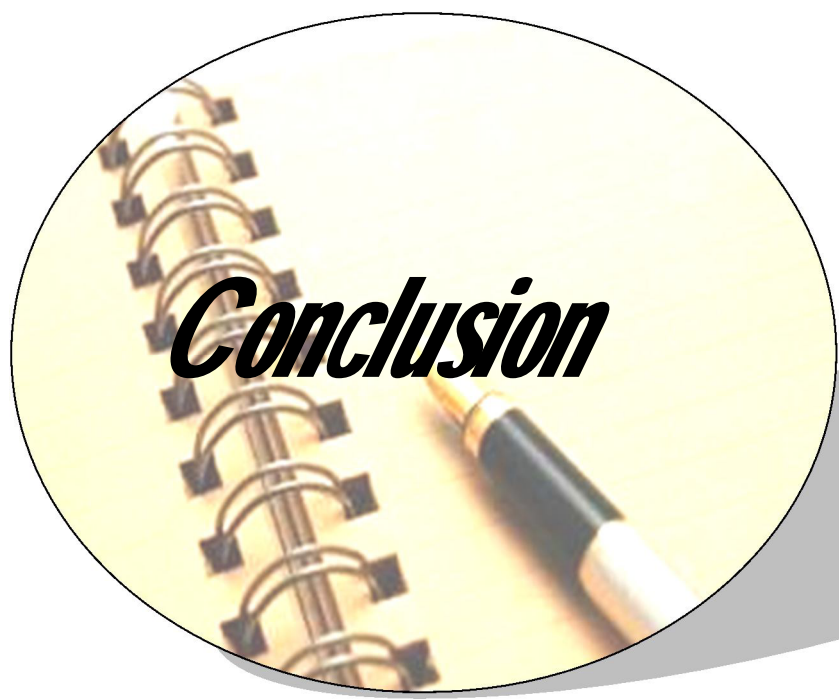
Les résultats de notre étude concordent donc avec les données de la littérature, les deux femmes qui ont reçu une antibiothérapie dès l'entrée en travail et la troisième femme dès la rupture de la poche des eaux, leurs NNés ne présentaient pas une infection à SGB, par contre les trois femmes qui n'ont pas reçus une antibiothérapie ont comme résultat : 2 NNés infectés et un seul est colonisé (heureusement ces 2 NNés infectés sont traités par une bi antibiothérapie généraliste probabiliste par association de β lactamines et d'aminosides avant d'avoir les résultats des prélèvements bactériologique. .

III.2.4 Antibiorésistance

Dans notre étude, on a trouvé que toutes les souches de *Streptococcus agalactiae* (100%) isolées ont présenté une sensibilité de haut niveau aux gentamycine, rifampicine, vancomycine et aux pristinamycine, mais pour l'érythromycine, on a trouvé 5 souches avec une sensibilité de haut niveau (83,33%), et une souche avec une résistance de bas niveau (16,67%) (Peu sensible). **Loulergue et al (2004)** dans une étude de l'activité de 8 antibiotiques sur 322 souches de *S. agalactiae*, pour les macrolides, ils ont trouvé une sensibilité de plus de 80%.

Denis (2002) rapporte que les streptocoques ne présentent aucune résistance à la pénicilline à ce jour. Il montre aussi que des résistances acquises ont été observées notamment aux macrolides : érythromycine et clindamycine chez respectivement 7,4% et 3,4% des souches invasives et 16% et 15% des isolats issus du tractus génito-urinaire. Et aussi il rapporte que la résistance de *S. agalactiae* aux tétracyclines atteint actuellement 95% des souches.

On ne peut pas conclure des résultats, car on a étudié l'activité de cinq ATB uniquement sur six souches de SGB seulement.



Conclusion

Le streptocoque du groupe B est actuellement la première cause d'infections maternofoetales et néonatales. Les répercussions de ces infections en terme de morbidité et mortalité néonatales sont importantes. Elles pourraient être prévenues par l'administration intrapartum d'une antibioprophylaxie aux mères d'enfants à risque de développer une infection précoce.

Notre étude avait pour but d'apprécier la prévalence du portage maternel du SGB chez les femmes enceintes après 36 SA dans l'EPH de ZIRALDA, afin de mettre en place d'une stratégie préventive.

Dans notre recherche le taux de portage vaginal est de 10 %, ce qui place notre région parmi celles de faible portage, et le portage rectal est de 22%, qui confère que l'origine de présence de SGB dans le vagin est le rectum dont le mode de contamination est probablement lié à l'hygiène individuelle et se fait par contiguïté comme en témoignent les taux dégressifs de colonisation du rectum à la vulve, au vagin et au col. Donc il faut que pour toute femme enceinte ou non enceinte faire leur hygiène individuelle de la vulve jusqu'à l'anus.

Aussi on peut conclure l'absence de véritables facteurs prédictifs du portage vaginal.

La prise en charge optimale en cas d'association SGB et grossesse nécessite une collaboration étroite entre les bactériologistes, les obstétriciens et les pédiatres pour une prise en compte immédiate des données d'anamnèse infectieuse obstétricale et l'établissement d'une surveillance et d'une thérapeutique néonatale éventuelle adaptée.

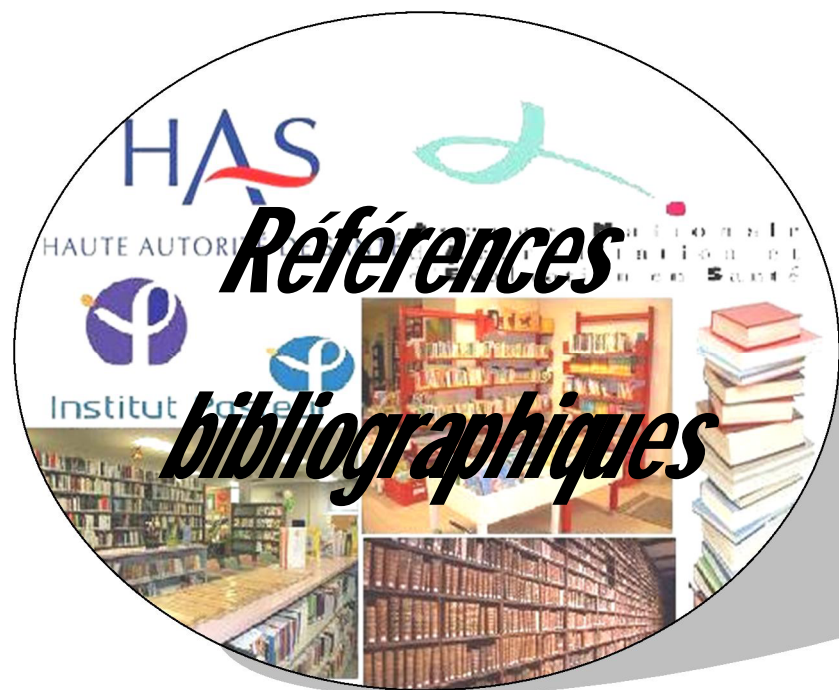
Recommandations et perspectives

Au terme de cette étude, nous faisons les recommandations suivantes :

- Obliger les femmes enceintes de faire un dépistage en antepartum du portage vaginal de SGB qui consiste en un PV à partir de 36 SA.
- L'utilisation de la technique culture pour le dépistage malgré la disponibilité des méthodes plus rapides et plus sensibles.
- Une antibioprofylaxie en per partum du portage de SGB en cas de :
 - *Diagnostic de portage positif à SGB en antepartum.
 - *Bactériurie à SGB au cours de la grossesse.
 - *Antécédent d'infection néonatale à SGB.
 - *Si présence de facteurs de risque lorsque le résultat du test est absent : un accouchement prématuré survenant avant 37 SA, une durée de rupture des membranes supérieure à 12 heures, une température maternelle supérieure à 38°C durant le travail.
- En première intention, il sera prescrit une pénicilline G ou de l'amoxicilline en intraveineux toutes les 4 heures jusqu'à l'accouchement.
- L'antibioprofylaxie doit être débutée le plus précocement possible au cours du travail, car son efficacité n'est optimale qu'à partir de la 2ème injection.
- En cas d'allergie à la pénicilline, un antibiogramme est justifié en raison de la résistance de certaines souches de SGB aux macrolides : les alternatives sont l'érythromycine ou la clindamycine malgré le risque d'allergie croisée.

Pour les NNés de mères ayant reçu une antibioprofylaxie :

- En présence de signes d'infection, une antibiothérapie empirique (ampicilline + gentamicine initialement, et puis pénicilline) est entreprise après une hémoculture ou une ponction lombaire..... (en fonction des signes cliniques).
- En absence de signes d'infection, si l'enfant est prématuré (< 37SA) ou si l'antibioprofylaxie a été administrée depuis moins de 4 heures, les enfants sont observés plus étroitement pendant 48 heures. Seul un bilan infectieux limité est recommandé (hémoculture).
- En cas de suspicion de sepsis un traitement empirique est commencé.
- En absence de signes infectieux et si l'antibioprofylaxie a été administrée depuis plus de 4 heures, les enfants sont observés plus attentivement pendant 48 heures mais aucun bilan infectieux ni traitement antibiotique sont recommandés.
- Conseiller les femmes enceintes de faire une correcte hygiène individuelle de la vulve à l'anus, pour ne pas transférer les germes de rectum au vagin.



Références bibliographiques

A

1. **AARN.** 2001. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire).Algérie. Santé Algérie.
2. **Albert H., Adriaanse-Louis AA., Kollée-Harry L., Muytjens JG., Nijhuis-Anton FJ., Haan-Tom KAB.** 1995. Randomized study of vaginal chlorhexidine disinfection during labor to prevent vertical transmission of group B streptococci. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology.* 61: 135-141.
3. **Amin A., Abdulrazzaq YM., Uduman S.** 2002. Group B Streptococcal serotype distribution of isolates from colonized pregnant women at the time of delivery in United Arab Emirates. *J Infect.* 45: 42-6.
4. **Amoroso A., Demares D., Mollerac M., Gutkind G., Coyette JA.** 2001. All detectable high-molecular-mass penicillin-binding proteins are modified in a high-level beta-lactam-resistant clinical isolate of *Streptococcus mitis*. *Antimicrob Agents Chemother.*45:2075-81.
5. **ANAES.** 2003. Prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 32: 68-74.
6. **ANAES.** 2002. Recommandations pour la pratique clinique. Diagnostic et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né.
7. **Anthony BF, Carter JA, Eisenstadt R.** 1983. Isolation of group B streptococci from the proximal small intestine of adults. *J. Infect. Dis.* 147:776.
8. **Anthony BF., Eisenstadt R., Carter J.** 1981. Genital and intestinal carriage of group B streptococci during pregnancy. *J. Infect. Dis.* 143:761-766.
9. **Anthony BF., Okada DM., Hobel CJ.** 1978. Epidemiology of groupe B streptococcus: longitudinal observation during pregnancy. *J Inf Dis.* 137:254-530.
10. **Arijaan W., Arwen J., Oostvogel M., Mutsaers AE.** 2006. Prevalence of colonization with group B Streptococci in pregnant women Of a multi-ethnic population in The Netherlands. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 124:178–183.
11. **Arnaud E., Spiesser-Robelet L., Bourdon O., Sibony O.** 2009. Antibiotiques et grossesse. Elsevier.11: 65-80.
12. **Aubry-Damon H., Galimand M., Gerbaud G., Courvalin P.** 2002. RpoB mutation conferring rifampin resistance in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 1571-3.
13. **Aujard Y.**2001.Infections néonatales (II).Encyclopédie médico-chirurgicale. 4-002-R-92.
14. **Avril JL., Dabernat H., Denis F., Montiel H.** 2002. Bactériologie clinique. Ellipses. 602p.
15. **Avril JP., Dabernat H., Denis F., Monteil H.**1992. Bactériologie clinique. Massson. 511p.
16. **Azèle F.** 1989. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Editions C et R.-treizième édition. 450p.

B

17. **Baker CJ., Edwards MS.**1990. Group B streptococcal infections. In « Infections diseases of the fetus and the newborn ». Saunders.742-811.
18. **Balaka B., Agbèrè A., Dagnra A., Baeta S., Kessie K., Assimadi K.** 2005. Portage génital bactérien au dernier trimestre de la grossesse et infections néonatales précoces. *Archives de Pédiatrie.* 12: 514-519
19. **Baveux CT., Noguier AS., Mallet B.,Djavadzadeh-Amin M., Kacet N., Truffert P., Subtil D.,Dubos JC.**2008. Prévention des infections bactériennes néonatales précoces à streptocoque B « l'expérience du CHRU de Lille en 2005 ». *Science-Directe. Gynécologie Obstétrique.*4:37.
20. **Benitz WE., Gould JB., Druzin ML.** 1999.Preventing early-onset group B streptococcal sepsis: strategy development using decision analysis. *Pediatrics.*103: e76.

21. **Béraud J.** 2004. Le technicien d'analyse biologique : guide théorique et pratique. Lavoisier. 2083p.
22. **Blanc B., Blond MH., Chaix C., et al.** 2009. Les infections cervicovaginales au cours de la grossesse. Recommandations pour la pratique clinique. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 13 :55-62
23. **Blanc JL., Boubli L.** 1993. Gynécologie. Pradel. 609p.
24. **Blond MH., Gold F.** 2001. Infection bactérienne néonatales par contamination materno-foetale : pour un changement de paradigme. J. gynéco et obst bio de la reproduction. 30 : 533-551.
25. **Blond MH., Lenclen R., Poulain P., Guillaume S.** 1997. Quels sont les risques liés aux portages vaginaux et aux infections vaginales basses pour la mère, le fœtus et le nouveau-né ? J Gynecol Obstet Biol Reprod. 26: 13-28.
26. **Bou G Figueira M., Canle D., Cartelle M., Eiros JM., Villanueva R.** 2005. Evaluation of group B streptococcus differential agar for detection and isolation of streptococcus agalactiae. Clin Microbiol Infect. 11: 676-8.
27. **Bouvet A.** Cours de bactériologie générale. Centre National de Référence des Streptocoques. Hôtel Dieu. Université Paris VI.
28. **Boyer KM., Gadzala CA., Kelly PD., et al.** 1983. Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of cultures. J Inf Dis. 148: 802-809.
29. **Burman LG., Christensen P., Christensen K., et al.** 1992. Prevention of excess neonatal morbidity associated with group B streptococci by vaginal chlorhexidine disinfection during labour. Lancet. 340: 65-69.

C

30. **Chhuy T.** 2004. Dépistage du streptocoque B pendant la grossesse : expérience de la maternité de Soissons, à propos de 1674 patientes. Thèse Med. Amiens. 10.
31. **Chhuy T., Mansour G., Zejli A., Bouquigny C., Sock S., Abboud P.** 2005. Dépistage du streptocoque de groupe B pendant la grossesse. J Gynecol Obstet Biol Reprod .34 : 328-333.

D

32. **Delamare G.** 2006. Dictionnaire illustré des termes de médecine. Maloine s.a. 1048p.
33. **Denis F.** 2002. Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. John Libby Enrotext. 483p.
34. **Denis F., Ploy MC., Martin C., Bingen E., Quentin R.** 2007. Bactériologie médicale techniques usuelles. Elsevier Masson. 569p.
35. **Djendoubi L.** 2008. Prévention per natale bien conduite de l'infection maternofoetale à streptocoques B : conséquences du non respect des recommandations. Mémoire original, Université Paris V, Ecole de sage-femme de Baudelocque.
36. **Drake RL., Wayne-Vogl VA., Mitchell AWM.** 2006. Gray's anatomie pour les étudiants. Elsevier Masson. 999p.

E

37. **Eickhoff TC., Klein JO., Daly HL., et al.** 1964. Neonatal sepsis and other infections due to group B beta-hemolytic Streptococci. N Engl J Med. 271: 1221-1228.
38. **El Beitune P., Duarte G., Maffei CM., Quintana SM., De Sa Rosa E., Silva AC., et al.** 2006. Group B Streptococcus carriers among HIV-1 infected pregnant women: Prevalence and risk factors. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 128:54-8.

F

39. **Faller A., Sprumo P., Schunk M.** 2006. Le corps humain. De boeck et Larcier s.a. 596p.
40. **Fauchère JL.** 1997. Bactériofiches, Techniques en bactériologie clinique. Ellipses. 174p.
41. **Ferjani A., Ben Abdallah H., Ben Saida N., Gozzi C., Boukadida J.** 2005. Portage vaginal de Streptococcus agalactiae chez la femme enceinte en Tunisie : facteurs de risque et sensibilité aux antibiotiques des isolats. Bull Soc Pathol Exot. 99: 2:99-102.

42. **Ferrieri P.** 1985. GBS enzymes, hemolysin, toxins and other products. *Antibiot. Chemother.* 35: 57-70.
43. **Franciosi RA, Knostman JD, Zimmerman RA.** 1973. Group B streptococcal neonatal and infant infectious. *J Pediatr.*82: 707-18.

G

44. **Galimand M., Lambert T., Gerbaud G., Courvalin P.** 1999. High-level aminoglycoside resistance in the beta-hemolytic group G *Streptococcus* isolates BM2721. *Antimicrob Agents Chemother.* 43: 3008-10.
45. **Gibbs RS., Schrag S., Schuchat A.** 2004. Perinatal infections due to group B streptococci. *Obstet Gynecol.* 104 :1062-76.
46. **Goffinet F.** 1999. Antibiothérapie anténatale et per partum en cas de RPM. *J.Gynéco et obst bio de la reproduction.* 28. 650.
47. **Gonzalez I., Georgiou M., Alcaide F., Balas D., Linares J.** 1998. De la Campa A. Fluoroquinolone resistance mutations in the parC, parE, and gyrA genes of clinical isolates of viridans group streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 42: 2792-8.
48. **Goodrich S., Miller B.** 2007. Comparison of culture and 2 real-time polymerase chain reaction assays to detect group B *Streptococcus* during antepartum screening. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 59: 17–22.
49. **Graham JC., Gould FK.** 2002. Role of aminoglycosides in the treatment of bacterial endocarditis. *J Antimicrob Chemother.* 49: 437-44.
50. **Grenier B., Gold F.** 1986. Développement et maladies de l'enfant. Masson.
51. **Grimwood K., Stone PR., Gosling IA., et al.** 2002. Late antenatal carriage of group B *Streptococcus* by New Zealand women. *Aust N Z J Obstet Gynecol.* 42(2):182–6.
52. **Grimwood K., Stone PR., Gosling IA., Green R., Darlow BA., Lennon DR., et al.** 2002. Late antenatal carriage of group B streptococcus by New Zealand woman. *Aust N Z J Obstet Gynecol.* 42:182-184.
53. **Grunfeld JP.**1994. Dictionnaire de médecine. Médecine-Science-Flammarion.1010p.
54. **Guerin JM., Leibinger F., Mofredj A., et al.** 1997. *Streptococcus B* meningitis in post-partum. *J. Infect.* 34:151-153.

H

55. **Hansen SM., Uldbjerg N., Kilian M., Sorensen BS.** 2004. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. *J. Clin. Microbiol.* 42:83–89.
56. **Hart T., Shears P.** 1999. Atlas de poche de microbiologie. Flammarion Médecine Science. 313p.
57. **HAS.,** 2002. recommandations et références professionnelles. Diagnostic et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né.
58. **Hood M., Janney A., Dameron G.** 1961. Beta-hemolytic *Streptococcus* group B associated with problems of perinatal period. *Am J Obstet Gynecol.* 82: 809-818.

J

59. **Jaureguy F., Carton M., Teboul J., Butel MJ., Panel P., Ghnassia JC., et al.** 2003. Facteurs de risque et stratégie de dépistage de la colonisation par le streptocoque du groupe B chez la femme enceinte : résultats d'une étude prospective. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 32: 132-8.
60. **Jerbi M., Hidar S., Hannachi N., El Moueddeb S., Djebbari H., Boukadida J., Chaieb A., Khairi H.** 2007. Facteurs de risque du portage du streptocoque du groupe B chez la femme enceinte à terme : étude prospective à propos de 294 cas. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 35: 312–316.

K

61. **Kaufhold A., Potgieter E.** 1993. Chromosomally mediated high-level gentamicin resistance in *Streptococcus mitis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 37: 2740-2.

L

62. **Lancefield RC.** 1934. A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic Streptococci (group B). *J Exp Med.* 59. 441-458.
63. **Lancefield RC., McCarty M., Everly WN.** 1975. Multiple mouse protective antibodies directed against group B streptococci: special reference to antibodies effective against protein antigens. *J. Exp. Med.* 342:165-179.
64. **LBM.** 2013. Manuel de prélèvement. Biopole 66. 104p
65. **Leblanc RM.** 2008. Détecter des infections génitales basses chez la femme. Communication lors des 17èmes Journées toulousaines de biologie médicale. *Option/Bio.* 19- 20.
66. **Leclercq R.** 2002. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis.* 34: 482-92.
67. **Lejeune C., Floch C., Butel MJ., et al.** 1991. Epidémiologie et prévention des infections périnatales à streptocoque du groupe B. *Prat.* 41 : 1350-1353.
68. **Lejeune C., Sereco-Corcós C., Moutard-Codou ML.** 1984. Epidémiologie et traitement des infections périnatales à streptocoque B. *Arch. Fr. Pédiatr.* 41 : 281-291.
69. **Lehmann S., Berger F.** 2007. Liquide céphalo-rachidien : prélèvement et conservation. *Reco Proteo Lcr Inca.* 1- 6
70. **Lemaire JJ., Brustel JC., Marson F.** 2005. Anatomie physiologique. Vernazobres-Gregg. 339p.
71. **Leruste S.** 1995. Streptocoque B et grossesse à propos de 51 observations. Thèse Med. Lille II. 51
72. **Leyral G., Joffin JN.** 1995. Microbiologie technique. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine.
73. **Liao CH., Huang LM., Lu CY., Lee CY., Hsueh PR., Tsao PN.** 2002. Group B streptococcus infection in infancy: 21-year experience. *Acta Pediatr.* 43 (6): 326-9.
74. **Lincetto O., Mc Guire W.** 2009. Prophylactic versus selective antibiotics for term newborn infants of mothers with risk factors for neonatal infection. *Cochrane database of systematic reviews*, 4.
75. **Loulergue J., Couhé C., Grasmick C., Laudat P., Quentin R.** 2004. Sensibilité aux antibiotiques des souches de streptocoque du groupe B de portage vaginal isolées en France, 2003. *BEH* 2004. 18: 69-70.

M

76. **Marchand F.** 1985. Infection à streptocoque du groupe B chez la femme enceinte. Thèse Med. Lille.
77. **Marchou B., Gandois GM., Bonnet E.** 2002. Infection à streptocoque, maladies infectieuses. 8-009-A-10.
78. **Maried PN.** 2000. Biologie humaine : Anatomie et physiologie. De Boeck Université. 542p.
79. **Matorras R., Garcia-Perea A., Usandizaga JA., Onenaca F.** 1988. Recto-vaginal colonization and urinary tract infection by group B streptococcus in the pregnant diabetic patient. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 67: 617-20.
80. **Melin P., Schmitz M., De Mol P., Foidart JM., Rigo J.** 1999. Le streptocoque du groupe B, première cause d'infections néonatales graves. *Epidémiologie et stratégies de prévention.* *Med. Liège.* 54: 5: 460-467.
81. **Menard JP., Bretelle F.** 2009. Infections cervicovaginales au cours de la grossesse. *EMC Obstétrique.* 5-047-C-30.
82. **Merlet P.** 2004. Le petit Larousse illustré. Larousse. 1818p.
83. **Mey B.** 2006. Les infections materno-foetales à streptocoque du groupe B, Antibiothérapie et prophylaxie. Thèse. Faculté de Pharmacie de NANCY.
84. **Money DM., Dobson S.** 2004. Canadian Pediatric Society, Infections Diseases Committee. The prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *J Obstet Gynecol Can.* 26:826-40.
85. **Morris AB., Brown RB., Sands M.** 1993. Use of rifampin in non staphylococcal, nonmycobacterial disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 37: 1-7.

86. **Moyo SR., Mudzori J., Tswana SA., Maeland JA.** 2000. Prevalence, capsular type distribution, anthropometric and obstetric Factors of group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) colonization in pregnancy. *Cent Afr J Med.* 46: 115-20.

N

87. **Nessmann C., Larrouche JC.** 2001. Atlas de pathologie placentaire. Masson. 155p.
88. **Newton ER.** 2005. Premature rupture of membranes, and chorioamnionitis. *Clin Perinatol.* 32:571-600.
89. **Noguer-Stroebel A., Thibaudon C., Dubos JP., Djavadzadeh-Amini M., Husson MO., Truffert P.** 2008. Infections bactériennes néonatales précoces en maternité : peut-on limiter les prélèvements bactériologiques périphériques en salle de naissance ? *Arch Pediatr.* 15: 375- 381.

P

90. **Papiernik E. Cabrol D. Pons JC.** 1995. Obstétrique. Médecine Science Flammarion. 1584p.
91. **Paredes A., Wong P., Mason EO., Taber LH., Barrett F.** 1977. Nosocomial transmission of group B streptococci in a newborn nursery. *Pediatrics.* 59: 679-682.
92. **Patten S., Vollman AR., Manning SD., Mucenski M., Vidakovich J., Davies HD.** 2006. Vaccination for Group B Streptococcus during pregnancy: Attitudes and concerns of women and health care providers. *Social Science & Medicine.* 63:347-358.
93. **Pearlman MD., Pierson CL., Faix RG.** 1998. Frequent resistance of clinical group B streptococci isolates to clindamycin and erythromycin. *Obstet Gynecol:* 258-61.
94. **Perelman R.** 1985. Pédiatrie pratique: Périnatalogie. Maloine. 2: 1305-1311.
95. **Phares CR., Lynfield R., Farley MM., Mohle-Boetani J., Harrison L., H Petit S., et al.** 2005. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA.* 299:2056-2065.
96. **Pierre F., Quentin R., Gold F., Berger C.** 1992. Infection bactérienne maternofoetales. *Encycl. Méd. Chir, Obstétrique.* Elsevier. 5040-C10. 12 p.
97. **Piper MJ., Georgiou S., Xenakis E., Langer O.** 1999. Group B Streptococcus Infection Rate Unchanged by Gestational Diabetes. *Obstetrics & Gynecology.* 2: 292-296.
98. **Poyart C., Réglier-Poupet H., Tazi A., Billoët A., Dmytruk N., Bidet P., et al.** 2008. Invasive group B streptococcal infections in infants. *Emerg Infect Dis.* 14:1647-9.
99. **Puopolo KM., Madoff LC., Eichenwald EC.** 2005. Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics.* 115: 1240-6.

Q

100. **Quentin R.** 1997. Recommandations pour la pratique clinique .Flores bactériennes génitales chez la femme enceinte. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 26 : 9-12
101. **Quentin R., Morange-Saussier V., Watt S.** 2002. Prise en charge de *Streptococcus agalactiae* en obstétrique. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* Oct. 31: 465-473.

R

102. **Renee D., Stapelon MD., Jeremy M., et al.** 2005. Risk factors for group B streptococcal genitourinary tract colonization in pregnant women. *Obstet Gynecol.* 106: 1246-1252
103. **Renner RM., Renner A., Schmid S., Hoesli I., Nars P., Holzgreve W., et al.** 2006. Efficacy of a strategy to prevent neonatal early- onset group B streptococcal (GBS) sepsis. *J Perinat Med.* 34(1):32-8.
104. **RNLS.** 2008. Manuel de procédures des techniques de laboratoires d'analyses médicales. 97p.
105. **Robert C., Vincent P.** 2004. Biologie et physiologie humaine. PF007. 700p
106. **Rolland K., Quentin R.** 2000. Streptocoque du groupe B et grossesse. *Spectra Biologie.* 19:30-5.
107. **Roure RS.** 1996. Infections à streptocoque B et grossesse : expérience à l'Hôpital d'Aix-en-Provence du 1er Janvier 1994 au 31 Aout 1995. Thèse Med., Marseille.

S

- 108. Schauf V., Hlaing V.** 1975. Group B streptococcal colonization in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 47: 719–21.
- 109. Schmitz FJ., Fischer A., Boos M., Mayer S., Milatovic D., Fluit AC.** 2001. Quinolone-resistance mechanisms and in vitro susceptibility patterns among European isolates of *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, and *Streptococcus pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 20: 219-22.
- 110. Schuchat A., Oxtoby M., Cochi S., et al.** 1990. Population-based risk factors for neonatal group B streptococcal disease; results of cohort study in metropolitan, Atlanta. *J Infect. Dis.* 162: 672-677.
- 111. Schuchat A., Wenger DJ.** 1994. Epidemiology of group B streptococcal disease. *Epidemiologic Reviews.* 16:374-402.
- 112. Shabayek SAA., Abdalla SM., Abouzeid AMH.** 2009. Vaginal carriage and antibiotic susceptibility profile of group B *Streptococcus* during late pregnancy in Ismailia. *Journal of Infection and Public Health.* 2:86-90.
- 113. Sherwood L.** 2000. *Physiologie humaine.* De Boeck Université. 674p
- 114. Sicard D.** 1998. *Listeria monocytogenes* et streptocoque du groupe B dans les infections maternofoetales. *Immunoanal Biol Spec.* 13: 229-234.
- 115. Skoff TH., Farley MM., Petit S., Craig AS., Schaffner W., Gershman K., et al.** 2009. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in non pregnant Adults, 1990–2007. *Clin Infect Dis.* 49:85–92.
- 116. Speer BS., Shoemaker NB., Salyers AA.** 1992. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clin Microbiol Rev.* 5: 387-99.
- 117. Stapleton RD., Kahn JM., Evans LE., Critchlow CW., Gardella CM.** 2005. Risk factors for group B streptococcal genitourinary tract colonization in pregnant women. *Obstet Gynecol.* 106: 1246–52.

T

- 118. Tazi A., Doloy A., Réglier-Poupet H., Hemet ME., Raymond J., Poyart C.** 2009. Evaluation du nouveau milieu chromogène StrepB Select TM pour le dépistage anténatal des streptocoques du groupe B chez la femme enceinte. *Pathologie Biologie.* 57: 225-228.
- 119. Tazi A., Réglier-Poupet H., Dautezac F., Raymond J., Poyart C.** 2009. Comparative evaluation of streptoB ID chromogenic medium and Granada TM media for the detection of group B streptococcus from vaginal samples of pregnant women. *J Microbiol Methods.* 73: 263-5.
- 120. Terry RR., Kelly FW., Gauzer C., Jeitler M.** 1999. Risk factors for maternal colonization with group B beta-hemolytic streptococci. *Journal of the American Osteopathic Association.* 99, Issue 11, 571-571.
- 121. Hart T., Shears P.** 1997. *Atlas de poche de microbiologie.* Médecine-Sciences Flammarion. 314p.
- 122. Trentesaux AF.** 2006. Portage vaginal du streptocoque B et diabète antérieur à la grossesse: Etude cas-témoins. Thèse Med. Lille II.

V

- 123. Vanclaire J., Battisti O., et al.** 1993. Infections par streptocoque B en période néonatale. *Arch. Fr. Pédiatr.* 50:427-433.
- 124. Vangelder E., Decoster A., Bec A., Dehecq E., Quelquejay J., Ferrant L., et al.** 2002. Evaluation du Strep B OIA®, une méthode de détection rapide du portage de streptocoque B chez la femme enceinte. *Annales de Biologie Cliniques.* 60: 226-8.
- 125. Vauclaire J., Langhendries JP.** 1993. Infections par streptocoque B en période néonatale, épidémiologie et prévention. *Arch. Fr. Pédiatr.* 50: 427-33.
- 126. Verani JR., McGee L., Schrag SJ.** 2010. Prevention of perinatal group B streptococcal disease-revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep.* 59: 1–36.

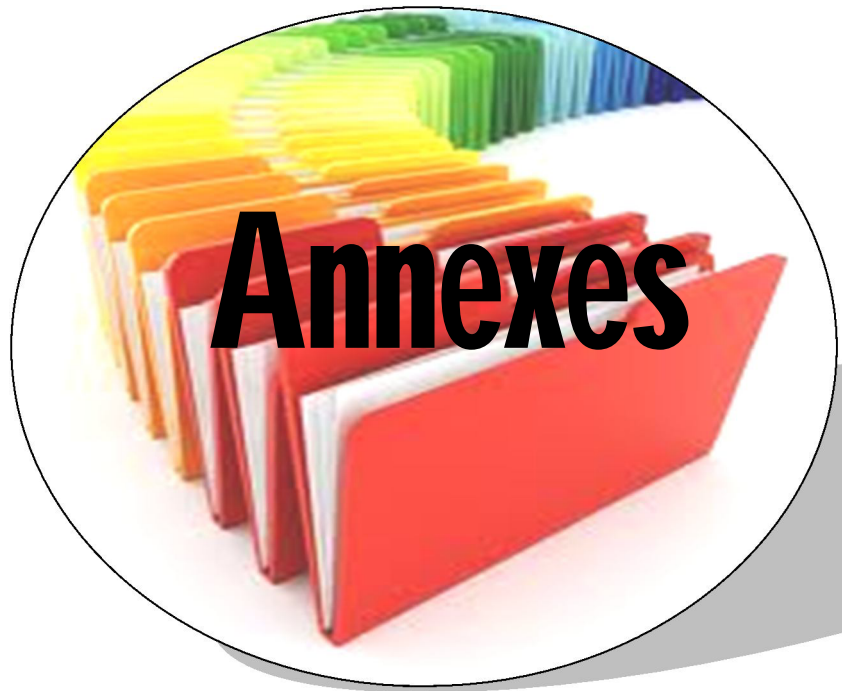
127. Voluménie JL., Fernandez H., Vial M., Lebrun L., Frydman R. 2001. Neonatal group B streptococcal infection. Results of 33 months of universal maternal screening and antibioprohylaxis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 94: 79-85.

W

128. Wolfe RR., Norwick ML., Bofill JA. 1998. Fatal maternal beta-hemolytic group B streptococcal meningitis; a case report. AM. J. Perinatol. 15:597-600.

Y

129. Yancey MK., Schuchat A., Brown LK., Ventura VL., Markenson GR. 1996. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol. 88(5):811-5.



Annexe (01)

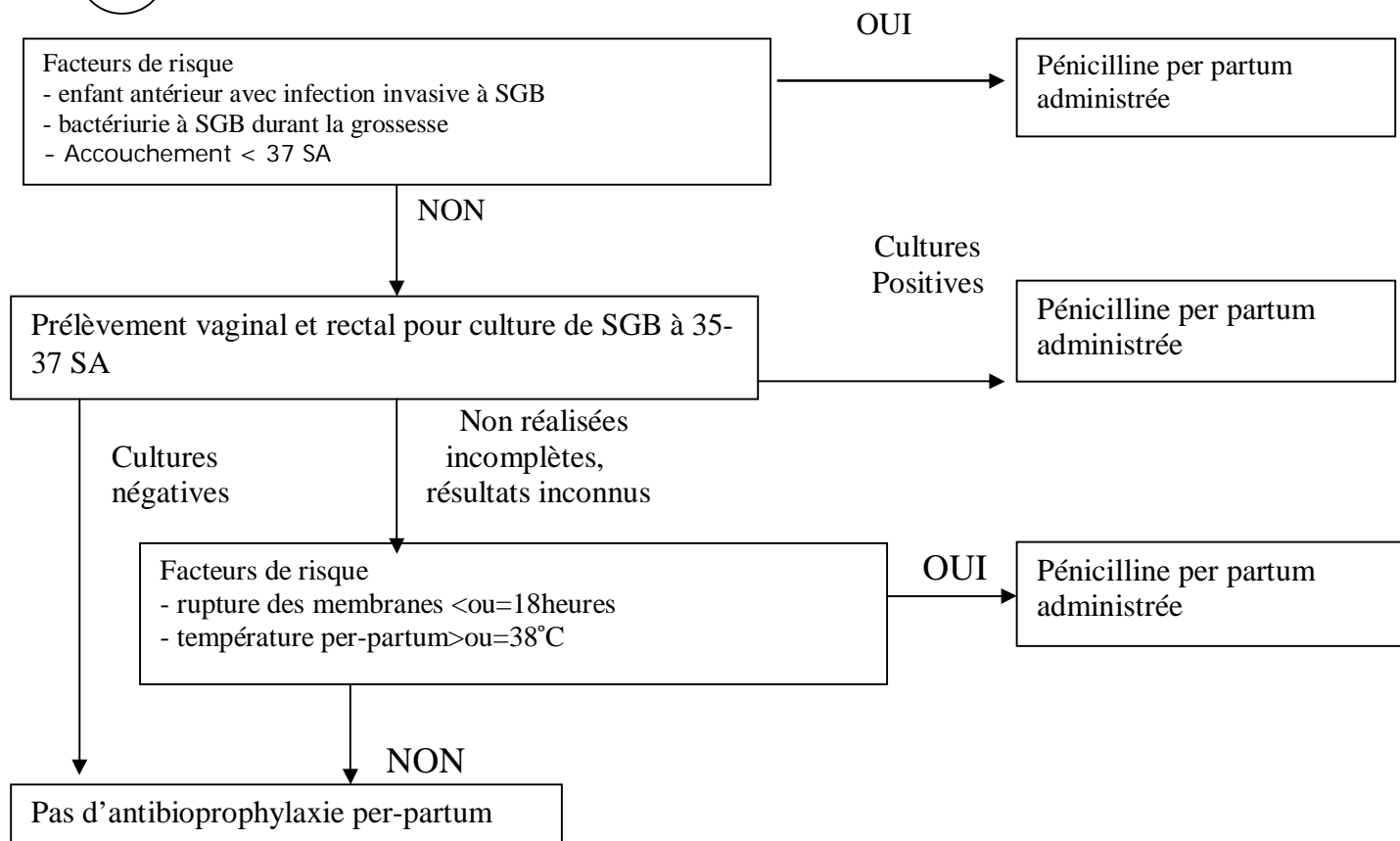
Les indications des prélèvements du liquide gastrique, du placenta et des prélèvements superficiels à la naissance (Quentin et al, 2002).

Anamnèse maternelle
<ul style="list-style-type: none">- Fièvre maternelle récente ou à l'accouchement- Infection urinaire à l'accouchement ou récente ou mal ou non traitée- Infection des voies génitales à l'accouchement ou récente ou mal ou non traitée- Portage génital de bactéries à haut risque infectieux
Indications obstétricales
<ul style="list-style-type: none">- Grossesse cerclée- Fausse couche- Rupture prématurée des membranes- Liquide méconial ou fétide- Accouchement prématurée quelle qu'en soit l'étiologie- Hypotrophie- Altération cardiotocographique inexplicée- pHmétrie < 7,20- Score d'Apgar < 7 à la 5ème minute- Abcès placentaire
Indications à l'examen du nouveau-né
<ul style="list-style-type: none">- Purpura ou éruption cutanée- Ictère précoce sans incompatibilité sanguine- Troubles respiratoires sans explications obstétricales- Troubles hémodynamiques- Troubles du tonus ou anomalies du comportement- Troubles digestifs- Hépatite et/ou splénomégalie- Instabilité thermique- Mort in utero / mort né

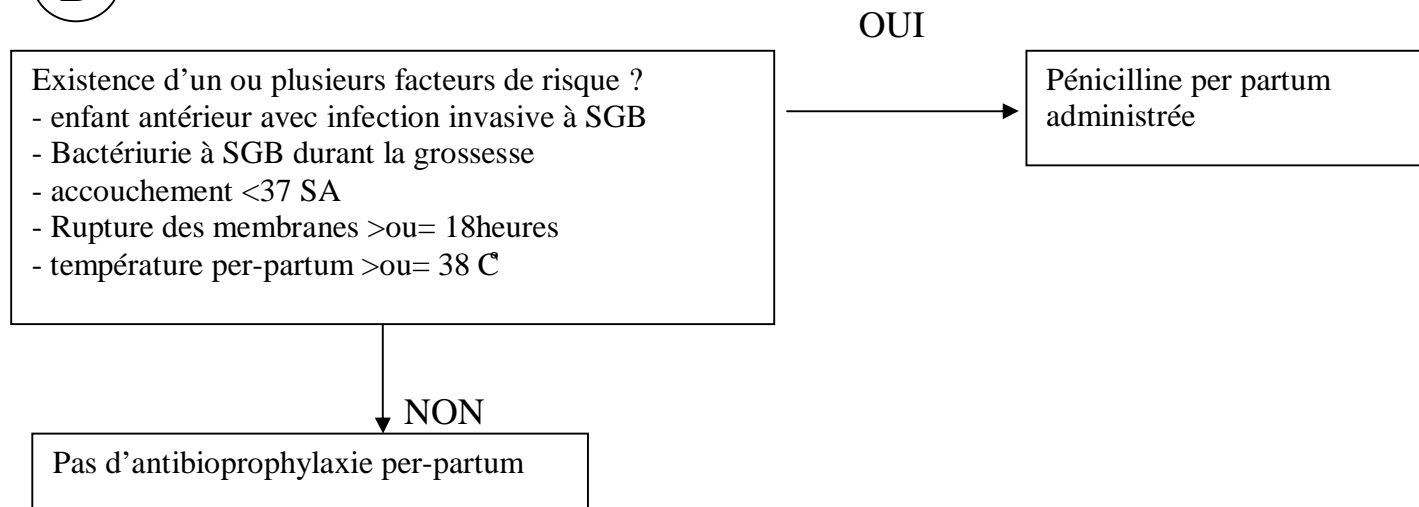
Annexe (02)

Stratégies de prévention de l'infection néonatale précoce à SGB recommandées par le CDC (Denis, 2002).

A



B

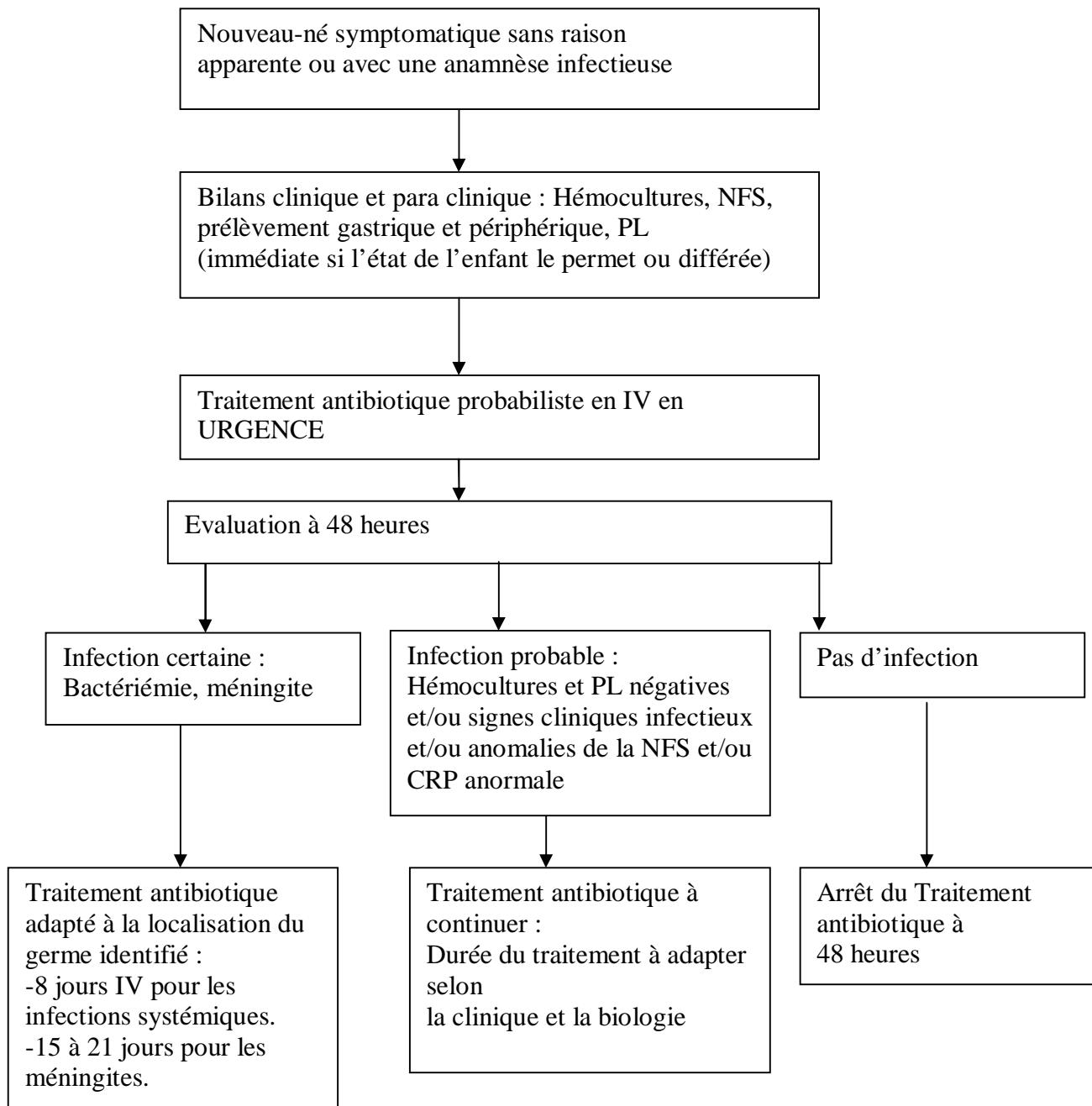


A : Stratégie utilisant la culture prénatale à 35-37 semaines de gestation.

B : Stratégie utilisant les facteurs de risque sans culture.

Annexe (03)

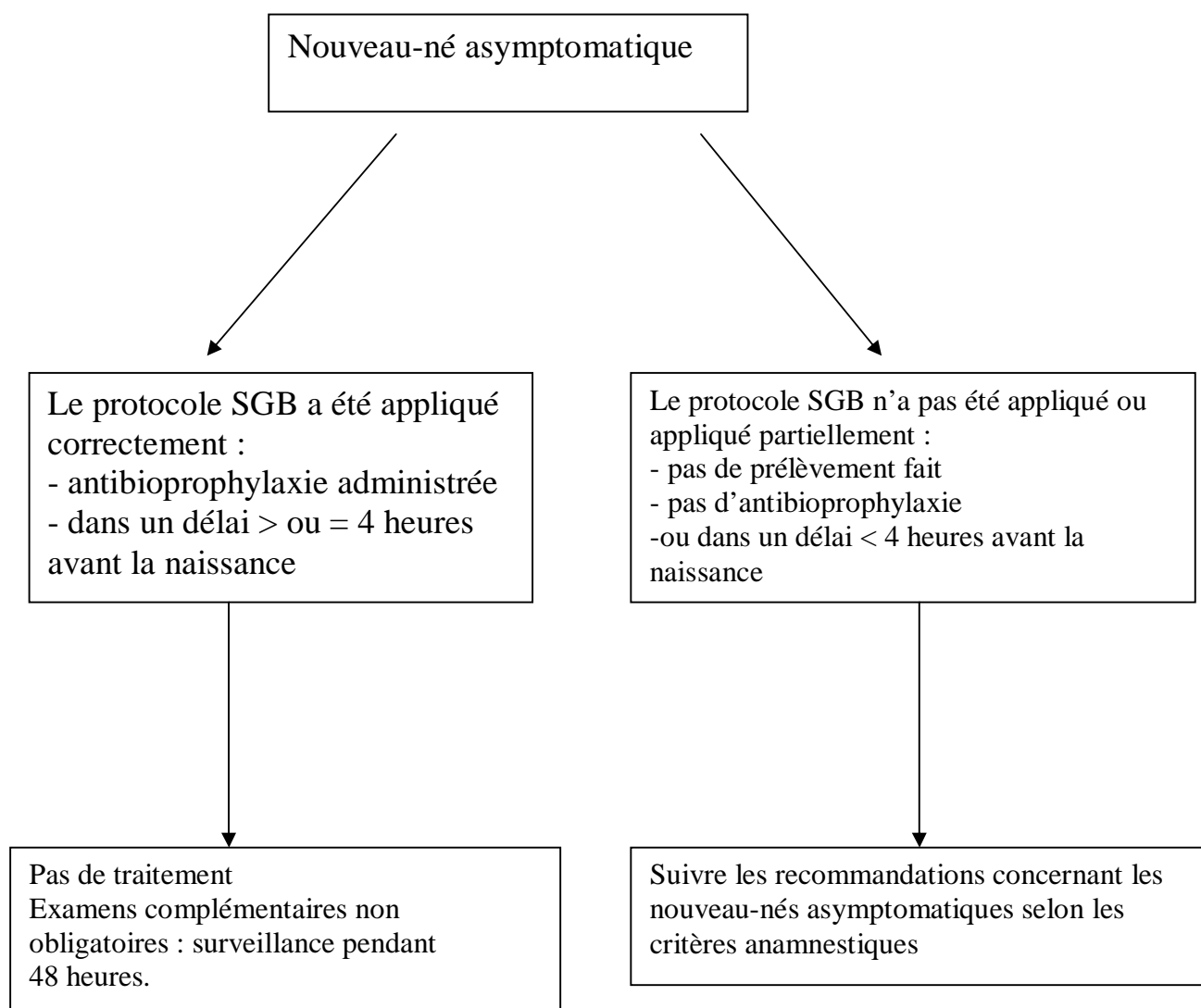
Indication d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né symptomatique dans le cadre d'un protocole « Streptocoque B » (ANAES, 2002) :



Lorsque le nouveau-né est infecté par *S. agalactiae*, les modalités thérapeutiques proposées par Baker sont (Baker, 1997):
- l'association ampicilline (150 mg/kg/jour) et gentamicine (5 à 7mg /kg/jour), en cas de suspicion de sepsis jusqu'à la réponse totale du laboratoire, puis l'ampicilline (150 mg/kg/jour) ou la pénicilline G (200 000 UI/kg/jour) pendant 10 jours pour les bactériémies confirmées.- l'association ampicilline (300 mg/kg/jour) et gentamicine (5 à 7 mg/kg/jour), en cas de suspicion de méningites jusqu'à la réponse totale du laboratoire, puis la pénicilline G (400 000 à 500 000 UI/kg/jour) pendant 14 jours au minimum pour les méningites confirmées.

Annexe (04)

Indication d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né asymptomatique dans le cadre d'un protocole « Streptocoque B » (ANAES, 2002) :



Annexe (05)

WILAYA D'ALGER
ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE ZIRALDA
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE
Unité de Bactériologie

FICHE D'ÉVALUATION DU PORTAGE DE STREPTOCOQUE DU GROUPE B APRES 36 SA

Téléphone :

N°:

Date ://

Nom :Prénom :Âge :

.....

Niveau d'étude : Primaire Secondaire Supérieur

Gestité : Parité : nullipare primipare

Profession :Niveau socioéconomique :

ANTECEDENTS MEDICAUX:

Diabète

grossesse

Fausse couche spontanée

prématuré

Grossesse extra-utérine

Portage de streptocoque B

gravidique

Mort per-partum

Tabagisme

Obésité

Interruption volontaire de

Menace d'accouchement

Mort foetale in utéro

Pyélonéphrite aigue

Mort néonatale

portage de VIH

FACTEURS LIES A LA GROSSESSE EN COURS :

Age Gestationnel :

Grossesse gémellaire

Diabète gestationnel

Menace d'accouchement prématuré àSA

Pyélonéphrite aigue gravidique

Infection uro-génitale

Statut immunologique

Episode fébrile > à 38.5 :

Antibiotiques reçus dans les derniers mois avant le dépistage

.....

PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES :

Prélèvement fait: Avant l'admission A l'admission

- Prélèvement vaginal :

- Prélèvement rectal :

Annexe (06)

WILAYA D'ALGER
ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE ZIRALDA
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE
Unité de Bactériologie

FICHE D'ÉVALUATION DU PORTAGE DE STREPTOCOQUE DU GROUPE B CHEZ LES NOUVEAUX NÉS

Téléphone :

N°:

Date ://

Nom de la mère :prénom:..... Âge :

Nom de nouveau né :Prénom :.....Âge :

Mort in utero / mort né Accouchement prématuré

PARAMETRES INHERANT AU TRAVAIL :

Rupture prématurée des membranes :Heures / accouchement.

Rupture des membranes à terme

Antibiotiques reçus : Type :

Episode fébrile > à 38.5 :

Accouchement : Voie basse Voie haute

Indications à l'examen du nouveau-né :

- Antécédents d'enfants infectés par le germe
 - un liquide amniotique méconial
 - des anomalies du rythme cardiaque foetal
 - une mauvaise adaptation néonatale
 - Une altération de l'état général
 - Septicémie avec état de choc dès la.....h/jr
 - Infection urinaire à l'accouchement
 - Infection des voies génitales à l'accouchement
 - Abscès placentaire
 - Purpura ou éruption cutanée
 - Ictère précoce sans incompatibilité sanguine
 - Troubles respiratoires sans explications obstétricales
 - Troubles hémodynamiques
 - Troubles digestifs
 - Hépato et/ou splénomégalie
 - fièvre et Instabilité thermique
-
- Méningite purulente
 - ostéoarthrites
 - Signes neurologiques
 - infections rénales

Annexe (08)

WILAYA D'ALGER
ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE ZIRALDA
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE
Unité de Bactériologie

Hémoculture : feuille de suivi

N° :

NOM : PRENOM :

AGE : SERVICE :

Date de sortie: //20... Heure :

TM du patient au moment du prélèvement :°C Frisson ?

Traitement antibiotique : Oui Lequel : Non

Type de prélèvement : veineux périphérique chambre implantable cathéter

Nombre de flacon : 1 2

Renseignements cliniques :

.....

.....

Annexe (09)

WILAYA D'ALGER
ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER DE ZIRALDA
LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE
Unité de Bactériologie

Feuille de suivi :

Prélèvements périphériques et prélèvements placentaires

N°: Date ://
Nom de la mère :prénom:..... Âge :.....
Nom de nouveau né :Prénom :.....Âge :

Prélèvements périphériques? ◇ Lesquels :.....
.....
Heure d'accouchement : Heure de prélèvement :

Prélèvements placentaires ◇
Aspect :..... Couleur : présence d'abcès ◇
Heure d'accouchement : Heure de prélèvement :

Annexe (10)

Matériel non biologique

1. Matériel pour les pvts

- Table d'examen gynécologique
- Des gants à usage unique
- Des écouvillons stériles
- Antiseptique
- Bistouri ciseau (pour placenta)
- Des aiguilles à épicrotiniennes-adaptateur corps de pompe-corps de pompe
- Garrot-flacons à hémoculture
- Compresse stérile-sparadrap
- Pochette de transport

2. matériel pour l'examen biologique

*milieux de culture :

- BGT
- Gélose au sang frais (sang de mouton)
- Hémocultures

*réactifs et solutions :

- Colorants : violet de Gentiane, fushine, lugol
- Solutions : sang, eau physiologique stérile, eau oxygénée, alcool
- Réactifs : -enzyme d'extraction d'AG capsulaires des streptocoques
-sérum d'agglutination pour le SGB

*verreries et appareillage :

- Verreries :
 - Jarre
 - Lames et lamelles
 - Pipettes pasteur
 - Boîtes de pétri
 - Tubes à essai
- Appareillage :
 - Bec benzène
 - Microscope optique
 - Etuve réglée à 37°C
 - Réfrigérateur
 - Autoclave
- Petit matériel :
 - Cartes d'agglutination
 - Bâtonnets
 - Portoirs
 - Distributeurs d'antibiotiques
 - Disques d'antibiotiques
 - Pied à coulisse
 - Poire
 - Anse à platine
 - bougies

Annexe (11)

DÉROULEMENT DE L'HÉMOCULTURE

Mode opératoire

- Sélectionner les flacons à prélever.
- Monter l'aiguille sur le corps de prélèvement.
- Appliquer sur ses mains le gel hydroalcoolique par friction.
- Porter des gants.
- Positionner le garrot.
- Repérer une veine accessible.
- Procéder à l'antisepsie rigoureuse de la zone à prélever avec la Bétadine dermique ou chlorhexidine (en cas d'allergie à l'iode).
- Etirer la peau vers le bas et ponctionner sans cathériser.
- Retirer l'opercule du flacon à hémoculture.
- Placer les flacons dans le corps de prélèvement et remplir de quelques millilitres (8 à 10ml idéalement, sans dépasser la limite supérieure, cela pouvant entraîner des faux positifs). Commencer par le flacon aérobic.
- Desserrer le garrot avant le remplissage du dernier flacon si possible.
- Sortir l'aiguille et appliquer le coton sec.
- Eliminer l'aiguille en toute sécurité.
- Etiqueter les flacons.
- Appliquer le pansement.
- Indiquer l'heure de prélèvement.
- Transporter tout de suite au labo dans du coton cardé de préférence pour conserver la chaleur (**LBM, 2013**).

Annexe (12)

Composition des milieux de culture

1-Composition de BGT :

Peptone.....	20g
Extrait de viande.....	20g
Chlorure de sodium.....	2,5g
Phosphate mono potassique.....	0,7g
Phosphate disodique.....	8,3g
Glucose.....	4g
Eau distillée.....	1000 ml
PH.....	7,4

2-Composition de Muller Hinton (MH)

Infusion de viande de bœuf déshydratée.....	300g
Hydrolysate de caséine.....	17,5g
Amidon de maïs.....	1,5g
Agar.....	10g
Eau distillée.....	1000 ml
PH.....	7,4g

3-Préparation de milieu de la gélose au sang frais

Un flacon de gélose de Columbia de 225 ml

10 ml du sang de mouton

-couler dans les boîtes de Pétri environ 5 mm de hauteur sans le cuire.

Annexe (13)

Valeurs critiques des diamètres d'inhibition et des CMI pour SGB

FAMILLE DES ATB	ATB A TESTES	CHARGE DES DISQUES	CONCENTRATION CRITIQUE (m/l)		DIAMETRE CRITIQUE (mm)	
			c	c	D	d
Béta-lactamines	Pénicilline G	6 µg	≤ 0,25	>16	≥ 29	<8
	Amoxicilline	10µg	≤ 4	>16	≥19	<14
	Ampicilline	10µg	≤ 4	>14	≥19	<14
Aminosides	Gentamicine	500µg	≤ 250	>500	≥19	< 14
Macrolides	Erythromycine	15µg	≤ 1	> 4	≥22	<17
Streptogammines	Prestinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥22	<19
Lincosamides	Lincomicine	15 µg	≤ 2	> 8	≥21	<17
Sulfamide et association	Cotrimoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/30	> 8/25	≥16	<10
Glycopeptides	Vancomycine	30µg	≤ 4	>16	≥17	-

C : concentration critique d'inhibition.

c : concentration critique d'inhibition.

D : diamètre critique d'inhibition sensible.

d : diamètre critique d'inhibition résistant.

Annexe (14)

Résultats statistiques

Répartition des prélèvements :

	V+	V-	total
ANAL+	4	9	13
ANAL-	2	45	47
total	6	54	60

Age :

Age	prélèvements positifs	prélèvements négatifs	Total
≤20 ans	0	0	0
21 ans-30 ans	4	28	32
31 ans - 40 ans	2	23	25
≥ 41 ans	0	3	3
Total	6	54	60

Gestité :

Gestité	1	2	3	4	5	6	Total
prélèvements positifs	2	1	1	1	1	0	6
prélèvements négatifs	26	11	4	7	5	1	54
Total	28	12	5	8	6	1	60

Parité:

Parité	prélèvements positifs	prélèvements négatifs	Total
Nulliparité	1	9	10
Primiparité	2	22	24
Multiparité	3	23	26
Total	6	54	60

Niveau d'étude :

Niveau d'étude	prélèvements positifs	prélèvements négatifs	Total
primaire	2	16	18
secondaire	3	34	37
supérieur	1	4	5
Total	6	54	60

Profession :

Profession	<i>prélèvements positifs</i>	<i>prélèvements négatifs</i>	<i>Total</i>
Avec profession	2	21	23
Sans profession	4	33	37
<i>Total</i>	6	54	60

Antécédents

Antécédents (ATCD)	prélèvements positifs		prélèvements négatifs		<i>Total</i>
	Avec ATCD	Sans ATCD	Avec ATCD	Sans ATCD	
Fausse couches spontanées	5	1	37	17	60
GEU	0	6	0	54	60
Diabète	1	5	2	52	60
Mort néonatale	0	6	0	54	60
Pyélonéphrite aiguë gravidique	0	6	0	54	60
Mort perpartum	0	6	0	54	60
Interruption volontaire de grossesse	0	6	0	54	60
Portage antérieur de SGB	0	6	0	54	60
Mort fœtale in utero (MAP)	1	5	3	51	60
tabagisme passif	2	4	7	47	60
portage de VIH	0	6	0	54	60
obésité	1	5	5	49	60

Paramètres inhérent à la grossesse actuelle

		prélèvements positifs	prélèvements négatifs	<i>Total</i>
Age gestationnel	36	1	3	4
	37	0	5	5
	38	0	17	17
	39	1	7	8
	40	2	9	11
	41	2	13	15
	<i>total</i>	6	54	60
MAP		1	2	3
Pyélonéphrite aiguë gravidique		0	0	0
Grossesse gémellaire		0	0	0
Diabète gestationnel		0	1	1
Episode fébrile > à 38,5 °C		1	4	5

Paramètres inhérent au travail et à l'accouchement : On n'a suivi que les 6 femmes porteuses

Paramètres	Les femmes porteuses de SGB	
Bactériurie à SGB au cours de la grossesse	6	
RPM	1	
Rupture des membranes à terme	5	
Episode fébrile > à 38,5 °C	1	
Voie d'accouchement	Voie basse	6
	Voie haute	0
antibiothérapie	3	

Indications à l'examen du nouveau-né :

	Nouveaux nés
fièvre et Instabilité thermique	2
Une altération de l'état général	1
Septicémie avec état de choc	1
un liquide amniotique méconial	2

Répartition des nouveaux-nés sains, colonisés, infectés

	sains	colonisés	infectés
Nouveaux nés	3	1	2

Répartition des prélèvements bactériologiques périphériques positifs

	Prélèvements périphériques	carottes placentaires
Nouveaux nés	3	0

Répartition des hémocultures et ponctions lombaires

	Nouveaux nés
hémocultures	1(septicémie)
ponctions lombaires	1(Méningite purulente)

Signes cliniques présents à la naissance chez les nouveaux nés

signes cliniques	infectés	colonisés	sains
Une altération de l'état général	1	0	0
Septicémie avec état de choc	1	0	0
Méningite purulente	1	0	0
Ostéoarthrites	0	0	0
-Signes neurologiques	0	0	0
Infections rénales	0	0	0

Répartition des souches de SGB selon leurs sensibilités et leur résistance aux ATB

Malheureusement on n'a que 5 ATB dans le laboratoire

Résistance : Erythromycine → toutes les souches

Sensibilité : Gentamycine, Rifampicine, Vancomycine et Pristinamycine → toute les souches

Annexe (15)



Figure(23): les sérums d'agglutination et les enzymes d'extraction pour les streptocoques.



Figure(24) : gélose au sang frais (sang de mouton) avant l'utilisation.



Figure(25) : *Streptococcus agalactiae* (coloration de Gram).



Figure(26) : *Streptococcus agalactiae* (β hémolytique).



Figure(27) : *Streptococcus agalactiae* sur milieu *Granada* (colonies oranges).