

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département : biologie

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master

En Microbiologie appliquée

Thème :

*Etude de la prévalence et de  
l'antibiorésistance des principales bactéries  
isolées des prélèvements des pertes vaginales  
(wilaya Ain Defla)*

Soutenu au mois de : ...Juin2018

Soutenu le: ---/06/2018

Devant le jury composé de :

Président : Dr GUITARNI.H

Promoteur : Mr ACHAK.R

Par

- M<sup>elle</sup> LEFRAS Leila

- M<sup>elle</sup> LABDI Aziza

Examineurs :

1- M<sup>me</sup> MUDTAPHA SARI. F

2- M<sup>me</sup> LADAIDI A

Année universitaire 2017/2018



# *Remerciement*

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr Achak R, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire. On est sincèrement reconnaissantes, Monsieur, votre sens de devoir, vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous un modèle à suivre. Merci beaucoup.*

*À notre maître et président du jury, Dr. GUIARNI.H, Maître de conférences-B à l'université de Khemis miliana ;*

*Nous sommes très touchés de l'honneur et du privilège que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples sollicitations. Vos qualités humaines et scientifiques sont unanimement reconnues. Veuillez trouver ici notre respectueuse considération et profonde gratitude*

*À l'ensemble des jurys, M<sup>me</sup> Mudtapha Sari. F, Maître assistant-A et M<sup>me</sup> Ladaïdi A. Maître assistant-A à l'université de Khemis miliana ;*

*Nous sommes très sensibles par l'honneur que vous nous faites en acceptant de jurer notre travail.*

*Veuillez trouver à travers ce modeste travail la manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.*

*Nous remercions Dr. Zibouche responsable de laboratoire d'analyses médicales de nous avoir acceptées de faire notre stage pratique au sein de votre laboratoire, et de nous avoir facilité le déroulement de notre stage ainsi que pour votre sérieux, votre sens de responsabilité, et aussi votre modestie avec les patients, le personnel et les stagiaires.*

*Que Dieu vous protège et vous guide dans votre vie.*

*Je remercie Mme Fatiha et M<sup>elle</sup> Ibtissam responsables de l'unité de microbiologie au sein de laboratoire de Dr. Zibouche pour leurs conseils lucides et pertinents, et surtout pour leur grand soutien moral durant ma période de stage, sans oublier de remercier tout le personnel du laboratoire.*

## Dédicace

*A vous mes chers parents;*

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.*

*Votre bonté, votre générosité et vos sacrifices sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.*

*J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.*

*Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide.*

*J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois. Veuillez trouver en ce travail, qui est aussi le votre, l'expression de ma profonde reconnaissance, mon respect, mon amour et mon estime.*

*Puisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie.*

*A mes frères Mohamed et Mourad, mes sœur Salima et Amina pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements tout au long de mes études et également pour les bons moments passés et à venir.*

*A mon beau-frères Ben youcef et mes belles sœurs Rafika et fadwa pour vos soutiens, vos encouragements incessants et vos compréhensions*

*A mes neveux et mes nieces Anis, Anais, yesmine et le petit Adam je vous adore.*

*A mon binôme Aziza et toute sa famille, tu n'es pas juste un binôme de travail, tu es une amie et une sœur Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance envers toi, je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans ta vie.*

*A Toutes mes amies en particulier Marwa, Iman, Sara et Hadjer, Loubna, Khadija Khawla et Keltoum... pour les jours et les nuits blanches, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie..A notre belle amitié.*

*A toute la famille LEFRAS et BEN GOUFA*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

*Leila*



## *Je dédie ce travail :*

*A mes parents, Pour leur joie de vivre, leur patience et volonté dont vous m'avez toujours entourée et que vous m'avez transmise. Je vous remercie du fond du coeur pour m'avoir encouragée et conseillée durant mes études. Que Dieu vous accueille dans son paradis.*

*A m'adorable sœur ZHOR pour votre tendresse, votre soutien moral, votre présence à mes côtés. Je suis fière d'avoir une grande sœur comme vous,*

*A mes très chers frères AHMED et OMAR Pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour toute la spontanéité et vous élan chaleureux, Je vous dédie ce travail. Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.*

*A ma belle-sœur, Votre aide m'a toujours été précieuse. Je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez.*

*A mon neveu Rahim et mes nièces Norhan et Nadjwa*

*A toute la famille LABDI, DJEMAI et la famille LEFRAS*

*A mon âme Leïla*

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

*A mes amis qui m'ont soutenu et aidé : Marwa, Iman, Sara, Hadjer, Kaouther, Khadidja, Khaoula, Keltoum, Je vous remercie pour votre soutien tout le long de ces années de travail et pour les moments passés de joie ou de tristesse toujours on a été épaulés l'un à l'autre.*

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

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

**AZIZA**



## Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

API : Analytical profile index.

ATB : Antibiotique.

BDDE : Butyl Diglycidyl Ether.

BGT : Bouillon glucosé tamponné.

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

CTA : Cystine trypticase agar

CVV : Candidose vulvo-vaginale.

ECB : Examen cytobactériologique.

EMB : Eosine Bleu de Méthylène.

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

H<sub>2</sub>S : Hydrogène sulfuré.

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine.

IST : Infection sexuellement transmissible.

LDC : Lysine décarboxylase.

MIP : Maladie inflammatoire pelvienne.

NaCl : Chlorure de sodium.

NADH : Nicotinamide-adénine-dinucléotide-hydrogéné.

O<sub>2</sub> : Dioxygène.

ODC : Ornithine décarboxylase.

pH : Potentiel *hydrogène*.

PV : Perte vaginale.

SNC : Staphylocoque à coagulase négative.

TP : Taux de prothrombine.

UFC : Unité formant colonie.

URE : Urée

VB : Vaginose bactérienne.

VP : Voges-Proskauer.

ZI : Zone d'inhibition.

# Sommaire

Listes des tableaux

Liste des figures

Résumé

الملخص

Abstract

Introduction .....	1
1-Anatomie de l'appareil génital féminin : .....	3
1.1. Les ovaires :.....	3
1.2. L'utérus :.....	3
1.3.Les trompes utérines (voie de Fallope) :.....	4
1.4.La vulve : (pudendum féminin).....	4
1.5.Le vagin :.....	4
1. 5. 1. pH vaginal :.....	4
1. 5. 2. L'écosystème vaginal : .....	5
1. 5.3. La flore vaginale normale :.....	5
2.L'évolution de la flore vaginale au cours de la vie : .....	7
2.1. Des 1ères semaines de vie à la petite enfance :.....	7
2.2. Au moment de la puberté : .....	7
2.3. Au cours du cycle menstruel : .....	8
2.4. Chez la femme enceinte :.....	8
2.5. Chez la femme ménopausée .....	8
3. Les mécanismes d'inhibition de la prolifération des germes pathogènes par les lactobacilles (bacilles de Döderlein) .....	8
3.1. La production d'acide organique (majoritairement acide lactique) : .....	8
3.2.La production de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) :.....	9
3.3.production des bactériocines et substances similaires : exemple de l'inhibiteur de catalase :.....	10
4.Déséquilibre de la flore vaginale : .....	10
5.les leucorrhées .....	11
5.1. Les leucorrhées physiologiques :.....	11
5.2. Leucorrhées pathologiques :.....	11
6.Les principales infections vaginales :.....	12



<b>6.1. Infections à <i>Trichomonas vaginalis</i> :</b>	12
<b>6.2. Infections à <i>Neisseria gonorrhoeae</i> :</b>	13
<b>6.3. Infections aux Mycoplasmes :</b>	13
<b>6.4. Infections à Chlamydia :</b>	14
<b>6.5. Infections à <i>Candida albicans</i> :</b>	15
<b>6.6. Vaginose bactérienne :</b>	15
<b>6.7. Infections par germes banaux :</b>	16
<b>6.7.1. Les entérobactéries :</b>	16
6.7.1.1 : <i>E coli</i> :	16
6.7.1.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> :	16
6.7.1.3 <i>Proteus mirabilis</i> :	17
6.7.1.4 <i>Serratia sp</i> :	17
6.7.1.5 <i>Enterobacter cloacae</i> :	17
<b>6.7.2. Streptococcus sp :</b>	18
6.7.2.1. Streptococcus agalactiae du groupe B :	18
6.7.2.2. Streptococcus pyogènes du groupe A :	18
6.7.2.3. Streptococcus du groupe D ou entérocoques :	18
<b>6.7.3. Staphylococcus sp :</b>	18
<b>7. Autre germes rarement impliqués dans les infections vaginales :</b>	19
7.1. <i>Prevotella sp</i> :	19
7.2. <i>Bacteroides sp</i> :	19
7.3. <i>Haemophilus sp</i> :	19
7.4. <i>Clostridium perfringens</i> :	19
7.5. <i>Listeria monocytogenes</i> :	20
7.6. <i>Actinomyces sp</i> :	20
7.7. <i>Peptostreptococcus sp</i> :	20
<b>8. Les facteurs de risques des infections vaginales :</b>	20
8.1. Facteurs de risque du Vaginose bactérienne :	20
8.2. Facteurs de risque de la candidose vulvo-vaginal :	21
8.3. Facteurs de risque de Trichomonase :	21
<b>9. Les antibiotiques :</b>	21
9.1. Classification :	21
9.2. Mode d'action :	21
9.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques :	22

<b>10. traitement et interventions pharmacologique</b> .....	<b>22</b>
<b>Matériels et méthodes :</b> .....	<b>23</b>
<b>1. Problématique et objectifs :</b> .....	<b>23</b>
<b>2. cadre et lieu d'etude</b> .....	<b>23</b>
<b>3. Matériel utilisé :</b> .....	<b>24</b>
<b>4. Conditions de réalisation prélèvement vaginal :</b> .....	<b>24</b>
<b>5. Technique de prélèvement :</b> .....	<b>24</b>
<b>6. Transport et stockage :</b> .....	<b>26</b>
<b>7. Examen cytobactériologique des PV (E.C.B) :</b> .....	<b>26</b>
<b>7.1. Observation macroscopique :</b> .....	<b>27</b>
<b>7.2. Examen microscopique :</b> .....	<b>27</b>
<b>7.2.1. Etat frais :</b> .....	<b>27</b>
<b>7.2.2. Coloration de Gram :</b> .....	<b>27</b>
<b>7.2.3. Lecture :</b> .....	<b>28</b>
<b>7.3. Examen bactériologique :</b> .....	<b>28</b>
<b>7.3.1. Mise en culture :</b> .....	<b>28</b>
<b>7.3.2. Technique d'ensemencement :</b> .....	<b>29</b>
<b>7.3.3. L'identification macroscopique :</b> .....	<b>29</b>
<b>7.3.4. L'identification microscopique :</b> .....	<b>29</b>
<b>7.3.5. L'identification biochimique :</b> .....	<b>30</b>
<b>7.3.5.1. L'identification biochimique des cocci à Gram positif :</b> .....	<b>30</b>
<b>7.3.5.2. Identification biochimique des staphylocoques :</b> .....	<b>31</b>
<b>7.3.5.3. Identification biochimique des streptocoques:</b> .....	<b>33</b>
<b>7.3.5.4 Identification biochimique des cocci Gram négatif :</b> .....	<b>34</b>
<b>7.3.5.5. Identification biochimique des bacilles gram négatif :</b> .....	<b>34</b>
<b>7.3.5.6. Identification biochimique des entérobactéries:</b> .....	<b>35</b>
<b>8. Antibiogramme :</b> .....	<b>36</b>
<b>8.1. Préparation de l'inoculum:</b> .....	<b>37</b>
<b>8.2. Ensemencement :</b> .....	<b>37</b>
<b>8.3. Application des disques d'antibiotique :</b> .....	<b>37</b>
<b>9. Analyses Statistiques :</b> .....	<b>38</b>
<b>Résultat et discussion :</b> .....	<b>39</b>
<b>1. Répartition des prélèvements selon leur provenance :</b> .....	<b>39</b>
<b>2. Répartition des cas positifs selon leur provenance :</b> .....	<b>40</b>

<b>3.repartition des prelevements en fonction de l'age.....</b>	<b>41</b>
<b>4. Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale: .....</b>	<b>42</b>
5.repartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse).....	44
<b>6. Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation :.....</b>	<b>46</b>
<b>7. Résultat de l'examen cytobactériologique.....</b>	<b>47</b>
<b>7.1. Examen cytologique : .....</b>	<b>47</b>
<b>7.1.1. Examen macroscopique : .....</b>	<b>47</b>
<b>7.1.2. Examen microscopique : .....</b>	<b>47</b>
<b>7.2. Examen bactériologique.....</b>	<b>48</b>
<b>7.2.1. Aspect macroscopique :.....</b>	<b>48</b>
<b>7.2.2. Identification microscopique .....</b>	<b>50</b>
<b>7.2.3. Identification biochimique .....</b>	<b>51</b>
<b>7.2.3.1. Identification des cocci à Gram positif :.....</b>	<b>51</b>
<b>7.2.3.2. Identification des bacilles à Gram négatif :.....</b>	<b>51</b>
<b>7.2.3.3. Identification des levures : .....</b>	<b>52</b>
<b>7.3. La fréquence des agents infectieux identifiés :.....</b>	<b>53</b>
<b>8. Répartition de souches isolées selon l'âge : .....</b>	<b>56</b>
<b>9. Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial :.....</b>	<b>58</b>
<b>10. Répartition des souches isolées selon le statut de la femme :.....</b>	<b>59</b>
<b>11. Résultats de l'antibiogramme : .....</b>	<b>60</b>
<b>12. Profils de l'antibiorésistance : .....</b>	<b>64</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>66</b>
<b>Références bibliographies .....</b>	<b>69</b>
<b>Annexes</b>	

## Listes des tableaux

<b>Tableau 01</b> : composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée.....	6
<b>Tableau 02</b> : Procédure de réalisation et d'analyse des prélèvements cervico-vaginales .	25
<b>Tableau 03</b> : Analyse microbiologique du prélèvements vulvaires .....	26
<b>Tableau 04</b> : Répartition des prélèvements selon leur provenance .....	39
<b>Tableau 05</b> : Provenance des prélèvements des pertes vaginales.....	40
<b>Tableau 06</b> : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge .....	41
<b>Tableau 07</b> : Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale.....	43
<b>Tableau 08</b> : Répartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse).....	45
<b>Tableau 09</b> : Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation.....	46
<b>Tableau 10</b> : Les éléments trouvés dans les leucorrhées à l'état frais.....	48
<b>Tableau 11</b> : Aspect des colonies obtenues sur différents milieux de culture.....	49
<b>Tableau 12</b> : Répartition des souches bactériennes isolées selon la coloration de Gram...	50
<b>Tableau 13</b> : Résultats de l'identification biochimique des bacilles à Gram négatif.....	52
<b>Tableau 14</b> : Répartition de souches isolées selon leur nature .....	53
<b>Tableau 15</b> : Répartition de souches isolées selon l'âge .....	56
<b>Tableau 16</b> : Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial .....	58
<b>Tableau 17</b> : Répartition des souches isolées selon le statut de la femme .....	59
<b>Tableau 18</b> : Répartition des taux de l'antibiorésistance chez les streptocoques sp .....	60
<b>Tableau 19</b> : Taux de l'antibiorésistance chez les entérobactéries .....	61
<b>Tableau 20</b> : Taux de l'antibiorésistance chez les <i>Staphylococcus sp</i> .....	63
<b>Tableau 21</b> : Profil de résistance chez les <i>Streptococcus sp</i> .....	64
<b>Tableau 22</b> : Profil de résistance chez les entérobactéries .....	64
<b>Tableau 23</b> : Profil de résistance chez les <i>Staphylococcus sp</i> .....	65

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : les organes génitaux féminins vus de face (corps utérin apparait en coupe coronale.....	3
<b>Figure 02</b> : test de catalase positif .....	31
<b>Figure 03</b> : test de coagulase positif .....	33
<b>Figure 04</b> : Répartition des prélèvements selon leur provenance.....	39
<b>Figure 05</b> : Proportion des prélèvements positifs et négatifs .....	40
<b>Figure 06</b> : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge .....	41
<b>Figure 07</b> : Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale .....	43
<b>Figure 08</b> : Répartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse) .....	45
<b>Figure 09</b> : Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation.....	46
<b>Figure 10</b> : Résultat d'examen microscopique des pertes vaginales à l'état frais .....	48
<b>Figure 11</b> : <i>Staphylococcus sp</i> sur gélose au sang frais.....	49
<b>Figure 12</b> : Streptococcus sp sur gélose au sang frais .....	50
<b>Figure 13</b> : Répartition des souches bactériennes isolées selon la coloration de Gram .....	50
<b>Figure 14</b> : observation microscopique des coques après coloration de Gram Gx100 .....	51
<b>Figure 15</b> : l'identification biochimique d' <i>Escherichia coli</i> par la Galerie API 20 E .....	52
<b>Figure 16</b> : <i>Candida albicans</i> sur milieu Sabouraud.....	52
<b>Figure 17</b> : Observation microscopique des levures Gx 40 .....	53
<b>Figure 18</b> : Répartition de souches isolées selon leur nature.....	54
<b>Figure 19</b> : Répartition des souches isolées selon l'âge .....	56
<b>Figure 20</b> : Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial .....	58
<b>Figure 21</b> : Répartition des souches isolées selon le statut de la femme.....	59
<b>Figure 22</b> : Taux de l'antibiorésistance chez les streptocoques sp.....	60
<b>Figure 23</b> : Taux de l'antibiorésistance chez les entérobactéries .....	62
<b>Figure 24</b> : Taux de l'antibiorésistance chez les <i>Staphylococcus sp</i> .....	63

## Résumé

Les leucorrhées sont des motifs de consultation les plus fréquents en gynécologie et constituent un problème de santé publique en Algérie.

Notre travail s'intéresse au diagnostic microbiologique des écoulements vaginaux au niveau de la région d'Ain defla. Les 104 prélèvements (pertes vaginales) sont issus d'une population féminine en consultation interne (hôpital, 40 prélèvements) et externe (laboratoire privé, 64 prélèvements).

Les analyses cytobactériologiques ont permis d'isoler les germes suivants avec des pourcentages différents : *Streptococcus sp* (33,33%), *Candida albicans* (29,17%), *Candida sp* (20,83%), *E. coli*, *Trichomonas vaginalis* et *Staphylococcus sp* (4,16%). La distribution des germes isolées selon les catégories d'âge révèle que la tranche d'âge la plus affectée est entre 20 à 45 ans (60,41%), tandis que les femmes ménopausées ne sont atteintes que 29,16%, aussi nos résultats montrent que les infections vaginales touchent les femmes mariées que les femmes célibataires (70,37% vs 29,63%), aussi les femmes enceintes sont les plus infectées avec un taux de 42,11%.

Les résultats de l'antibiorésistance des bactéries isolées montrent que les *Streptococcus sp* sont sensibles vis-à-vis à la majorité des antibiotiques testés particulièrement les beta-lactamines et l'érythromycine. Concernant les entérobactéries, la gentamicine, amikacine et l'imipénème restent les antibiotiques les plus efficaces. Les *Staphylococcus sp* présentent une résistance considérable à la pénicilline et une sensibilité totale vis-à-vis de la majorité des antibiotiques utilisés particulièrement à la vancomycine.

**Mots clés :** leucorrhées, *Streptococcus sp*, *Candida*, *Staphylococcus sp*, *Trichomonas vaginalis*, antibioresistance.

## الملخص:

تعتبر الإفرازات المهبلية سبب للفحص الطبي النسائي الأكثر شيوعا وهي تعتبر مشكل للصحة العمومية في الجزائر

دراستنا الحالية تختص في التشخيص الميكروبيولوجي للإفرازات المهبلية على مستوى منطقة عين الدفلى .

العينات 104 مأخوذة من شريحة النساء في مراجعة جينيكولوجية داخلية (المستشفى 40 عينة) و خارجية (المخابر الخاصة 64 عينة )

سمحت التحاليل السيتوبكتريولوجية بعزل الجراثيم التالية بنسب مختلفة: *Streptococcus sp* (33,33%)، *Candida albicans* (29,17%)، *Candida sp* (20,83%)، *E.coli*، *Staphylococcus sp* (4,16%)، *Trichomonas vaginalis*. إن توزيع الجراثيم المعزولة حسب الفئة العمرية يكشف عن الفئة العمرية الأكثر تضررا بين 20 و 45 سنة (60,41%) بينما عند النساء في سن اليأس فقط بنسبة 29,17% كذلك نتائجها كشفت أن الالتهابات المهبلية تمس النساء المتزوجات على النساء العازبات 70,37% مقابل 29,16%. كذلك النساء الحوامل هن أكثر إصابة بنسبة 42,11%

نتائج المضادات الحيوية على الجراثيم المعزولة كشفت أن *streptococcus sp* حساسة لاغلبية اختبارات المضادات الحيوية بالأخص *beta-lactamines* و *erythromycine* فيما يخص *enterobacterie*، *amikacine*، *gentamycine* و *imipenème* هم المضادات الحيوية الأكثر فعالية. *staphylococcus sp.* تقدم مقاومة معتبرة إلى *penicilline* و حساسية كاملة الى معظم المضادات الحيوية المستعملة بالأخص *vancomycine*

**كلمات مفتاحية:** افرازات مهبلية، *Candida*، *Streptococcus sp*، *leucorrhées*، *Staphylococcus sp*، *Trichomonas vaginalis*، المقاومة للمضادات الحيوية.

## Abstract

Leucorrhoeas are the most common reasons in gynecology consultation and considered as a public health problem in Algeria.

Our work focused on the microbiological diagnosis of vaginal discharge in the region of Ain defla. The 104 samples (vaginal discharge) were taken from a women population in internal consultation (hospital, 40 samples) and external (particular laboratory, 64 samples).

Cytobacteriological analyzes allowed to isolate the following microorganisms with different percentages: *Streptococcus sp* (33.33%), *Candida albicans* (29.17%), *Candida sp* (20.83%), *E. coli*, *Trichomonas vaginalis* and *Staphylococcus sp* (4.16). The distribution of isolates according to age groups showed that the women belonged in the group of 20 to 45 years were the most affected (60.41%), while the rate observed for the postmenopausal women was 29.16%. Our results show also that vaginal infections affect married women compared to single women (70.37% vs 29.63%), also pregnant women are the most infected with a rate of 42.11%.

The results of antimicrobial testing show that *Streptococcus sp* were sensitive for the majority of the antibiotics especially beta-lactams and erythromycin. For enterobacteria, the following antibiotics: gentamicin, amikacin and imipenem remain to be most effective. *Staphylococcus sp* were resistance to penicillin and sensitive to most antibiotics tested especially for vancomycin.

**Key words:** leucorrhoea, *Streptococcus sp*, *Candida*, *Staphylococcus sp*, *Trichomonas vaginalis*, antimicrobial resistance.



### **Introduction :**

Les infections gynécologiques constituent un sujet de préoccupation majeur en terme de santé publique, leurs aspects cliniques trompeurs sont souvent à l'origine d'un passage à la chronicité et de pathologies génitales graves (**Judlin, 2002**). Vu la fréquence et la gravité des infections génitales féminines, ainsi la menace qu'elles représentent, elles peuvent avoir de graves conséquences : La stérilité, la grossesse extra- utérine, les douleurs pelviennes chroniques, les fausses couches (**Judlin & Thiebaugeorges, 2009**)

La protection de la cavité vaginale est assurée par la présence prédominante, mais non exclusive, du bacille de Doderlein qui digère les cellules desquamées vaginales, transformant leur glycogène en acide lactique. Ce qui permet de maintenir le pH vaginal entre 3,8 et 4,2 (**Bohbot, 2008**). Les lactobacilles forment un élément très important de l'écosystème vaginal et sont prédominant ( $10^7$  - $10^8$  UFC/g de sécrétion vaginale), chez les femmes saines pré-ménopausées. En effet, beaucoup d'infections des voies urinaires et vaginales sont associées à une diminution de la population des lactobacilles vaginaux (**Strus et al., 2005**)

Les infections génitales sont polymorphes et reconnaissent de nombreuses étiologies microbiennes. Les leucorrhées sont le motif de consultation le plus fréquent en gynécologie. L'expression « sécrétions vaginales » est paradoxale puisque le vagin ne sécrète rien à proprement parler. Pourtant, l'abondance, l'absence où les modifications qualitatives des sécrétions issues du vagin sont une plainte quotidienne en gynécologie. Souvent considérées comme synonymes d'infections génitales, les sécrétions vaginales inhabituelles ont, en réalité, bien d'autres étiologies dont des variations physiologiques ne nécessitant aucun traitement. Il n'en demeure pas moins que l'infection génitale doit être recherchée en priorité puisqu'on estime à un milliard le nombre de femmes atteintes annuellement d'une infection urogénitale basse dans le monde (**Reid, 2002**).

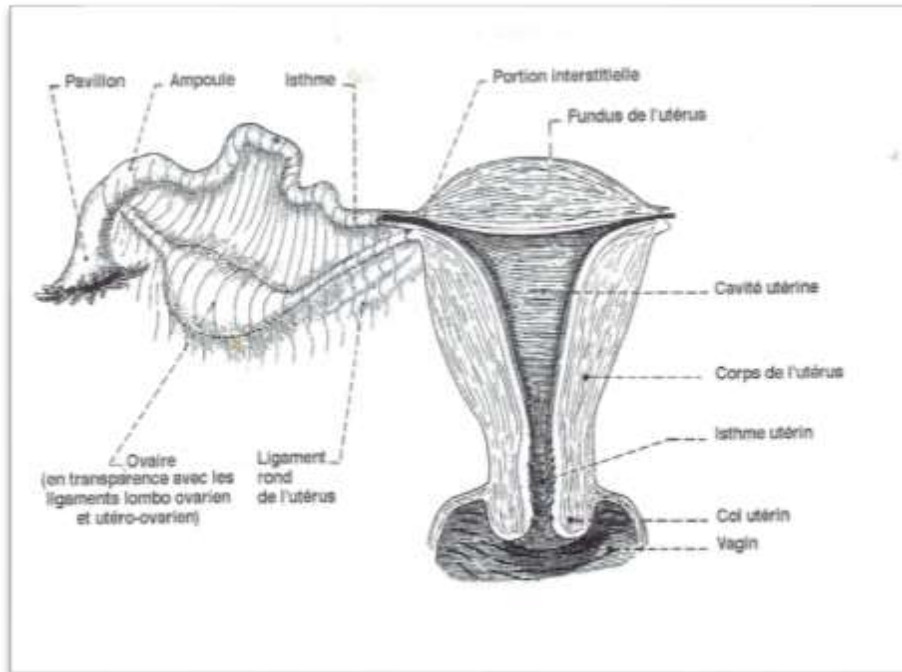
Les modifications des leucorrhées portent sur l'abondance mais aussi la couleur, la consistance et l'odeur. Des signes d'accompagnement comme le prurit, les brûlures locales ou l'existence de lésions permettent d'orienter le diagnostic. Il faut distinguer, d'une part, les leucorrhées physiologiques, dont les variations sont liées à des modifications hormonales ou à des conditions particulières comme la grossesse ou la ménopause, et les leucorrhées pathologiques d'autre part. Dans ce domaine, les infections sont de loin les plus fréquentes (vaginites candidosiques, vaginose bactérienne). Le diagnostic étiologique

peut être évoqué sur certains critères cliniques, mais le recours aux examens biologiques est indispensable surtout en cas de récives (**Bohbot, 2008**). La démarche que va entreprendre le médecin est la localisation du site infectieux puis la réalisation d'un prélèvement qu'il adressera pour un examen cyto bactériologique, pour en préciser l'étiologie et pouvoir fixer son choix sur une thérapeutique précise.

Dans ce contexte que s'inscrit notre travail. Afin de bien structurer notre démarche pratique, des objectifs principaux et d'autres complémentaires ont été définis visant à introduire puis analyser les diverses données. De la sorte, nous avons été amené à estimer la prévalence des principaux germes à partir des prélèvements de pertes vaginales. En deuxième intention envisagé l'évaluation de la sensibilité ou la résistance des bactéries isolées et identifiées aux quelques molécules antibiotiques, en fin, interpréter les résultats obtenus en essayant de cerner les principaux facteurs de risque entourant cette problématique des infections vaginales.

## 1. Anatomie de l'appareil génital féminin :

L'appareil génital féminin est constitué de : l'ovaire, l'utérus, trompes de Fallope, la vulve et le vagin.



**Figure 01** : les organes génitaux féminins vus de face (corps utérin apparaît en coupe coronale) (Chevrel *et al.*, 2000)

### 1.1. Les ovaires :

Les ovaires sont deux petits organes ovoïdes aplatis en forme d'amande, de 4 cm de long sur 1.5 cm d'épaisseur, situés latéralement à gauche et à droite dans la cavité pelvienne, ils pèsent chacun 6 à 8 grammes, ils assurent deux fonctions essentielles : la production d'ovocytes matures (ovules), et la sécrétion d'hormones stéroïdes (les œstrogènes et progestérone) (Heffner, 2003).

### 1.2. L'utérus :

Est un muscle lisse creux, en forme de poire, aux parois épaisses il est soutenu par tout un ensemble de structure conjonctives : ligaments transverses, ligament utéro-sacré et ligament large, quand il n'est pas distendu par une grossesse ou une tumeur, l'utérus mesure environ 10 cm de haut (Pelage *et al.*, 1999)

### **1.3. Les trompes utérines (voie de Fallope) :**

Est un conduit de 10 à 14 cm de long. Son extrémité libre se termine par un pavillon au bord effrangé situé au voisinage de l'ovaire. Sa seconde extrémité débouche dans la partie haute de l'utérus. Les trompes de Fallope assurent 4 fonctions essentielles :

- La recueille de l'ovocyte et commencent à l'acheminer en direction de l'utérus,
- Facilitent le déplacement des spermatozoïdes,
- Assurent des conditions favorables à la fécondation de l'ovule,
- Assurent le transport du zygote vers la cavité utérine (**Orsini & Pellet, 2005**)

### **1.4. La vulve : (pudendum féminin)**

C'est l'ensemble des organes génitaux externes de la femme.

Il comporte une dépression médiane ou vestibule dans laquelle s'ouvrent :

- En avant le méat de l'urètre.
- En arrière le vagin

Le vestibule est limité de chaque côté par 2 larges replis cutanés : grande lèvre la vulve en dehors et petite lèvre en dedans. Les grandes lèvres se réunissent et se perdent en avant sur le mont du pubis. Les petites lèvres se réunissent en avant et au niveau du clitoris, organe érectile située sur la ligne médiane en avant du méat urinaire. Il fait suite à la réunion de 2 racines latérales ou corps caverneux du clitoris. Deux autres organes érectiles : les bulbes vestibulaires sont placés de part et d'autre de l'orifice vaginal. Les glandes vestibulaires majeures (Bartholin) s'ouvrent dans le vestibule, de part et d'autre de l'orifice vaginal. L'hymen chez la vierge ferme le vagin à l'entrée du vestibule, de façon partielle permettant l'écoulement des règles. (**Chevrel et al., 2000**)

### **1.5. Le vagin :**

Est un conduit à paroi musculaire souple de 8 à 10 cm. La muqueuse tapissant la cavité vaginale est plissée et dépourvue de glandes. La partie haute est renflée et forme un cul-de-sac annulaire au centre duquel débouche le col de l'utérus (**Orsini & Pellet, 2005**)

#### **1.5.1. pH vaginal :**

Le pH vaginal normal varie de 4.0 à 4.5 chez la femme non ménopausée. Il augmente légèrement (4.5 à 5) après la ménopause en l'absence de traitement hormonal. L'acidité

des sécrétions vaginales contribue à limiter la prolifération bactérienne ainsi que l'adhérence des bactéries aux cellules vaginales.

Elle a donc un effet préventif important contre les infections vaginales. Elle est due à la présence d'acide lactique, produit par hydrolyse du glycogène contenu dans les cellules vaginales par la flore lactobacillaire. Les lactobacilles jouent un rôle fondamental dans l'équilibre de la flore vaginale et dans la prévention des infections (**Bohbot, 2008**)

### 1. 5. 2. L'écosystème vaginal :

Le milieu vaginal est composé d'une phase liquide, riche en eau et en substances d'origine plasmatique, et des constituants de la glaire cervicale. Les éléments solides et figurés du milieu vaginal sont des cellules vaginales épithéliales en grand nombre, des leucocytes en nombre modéré résultant surtout de la réponse inflammatoire d'un ectropion plus ou moins étendu, et des bactéries. La concentration bactérienne varie de  $10^5$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme de sécrétion vaginale selon la nature de la flore. (**Denis *et al.*, 2012**)

### 1. 5.3. La flore vaginale normale :

La flore vaginale normale est principalement composée de lactobacilles formant un biofilm protecteur à la surface de la muqueuse. Lors d'infections, cette flore est souvent remplacée par des microorganismes pathogènes. (**Rousseau, 2004**)

Pour une femme saine, d'âges moyens (post-pubertaires et pré-ménopausée), non enceinte et non menstruée, la flore vaginale est dominée par des lactobacilles de différentes espèces composant « la flore de Doderlein », les espèces reconnues comme dominant de la flore vaginale étaient : *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. leichmanii*, *L. delbrueckii* et *L. salivarius* (**Antonio *et al.*, 1999**).

*Lactobacillus crispatus*, est considéré comme très bénéfique du fait de ses nombreuses propriétés en particulier la production de fortes quantités d'acide lactique, dérivé immunomodulateur et à fort pouvoir antimicrobien. De ce fait, il est désormais proposé soit d'utiliser cette bactérie d'origine humaine comme probiotique en prévention ou en complément d'un traitement antibiotique ou antifongique, soit de l'aider par des prébiotiques à dominer la microflore vaginale (**Lepargneur, 2016**).

La flore vaginale normale est très diverse. Elle est constituée de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries par gramme de sécrétions vaginales. Les bactéries d'intérêt médical peuvent être groupées en trois populations de bactéries définies en fonction de leur origine écologique.

**Tableau 01** : composition de la flore vaginale de la femme pubère non ménopausée (Denis et al., 2012)

Groupe	La flore bactérienne
Groupe I	<p>La flore bactérienne de portage habituel (flore dominante) est spécifiquement adaptée à la cavité vaginale : elle est essentiellement constituée de lactobacilles (flore de Doderlein) de 1 à 4 espèces/femme.</p> <p>Classiquement observables à la coloration de Gram sous la forme de gros bacilles à Gram positif, certaines espèces ont une apparence de bacilles à Gram positif plus fins voire coccoïdes en courtes chaînettes faisant penser à tort à des corynébactéries et des streptocoques.</p>
Groupe II	<p>La flore bactérienne issue de la flore digestive colonise souvent les voies génitales maternelles. Elle est observée chez 2 à 80 % des femmes selon les bactéries impliquées. Elle est constituée des éléments suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– <i>Streptococcus agalactiae</i> et <i>Enterococcus</i></li> <li>– entérobactéries (<i>Escherichia coli</i> +++), mais aussi <i>Proteus</i>, <i>Morganella</i>, <i>Providencia</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i> et <i>Serratia</i> en particulier chez les patientes ayant reçu de multiples antibiothérapies</li> <li>– bacilles à Gram négatif aérobies strictes chez les patientes ayant reçu de multiples antibiothérapies ou ayant été colonisées par des produits contaminés : <i>Pseudomonas</i>, <i>Acinetobacter</i>, etc.</li> <li>– staphylocoques coagulase + et –</li> <li>– bactéries anaérobies (<i>Bacteroides</i> sp, <i>Prevotella</i> spp, <i>Porphyromonas</i> spp, <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Clostridium</i> spp, <i>Peptostreptococcus</i> spp, <i>Veillonella</i> spp, <i>Mobiluncus</i>, etc.)</li> <li>– <i>Gardnerella vaginalis</i></li> <li>– <i>Atopobium vaginae</i></li> <li>– mycoplasmes, en particulier <i>Mycoplasma hominis</i>, <i>Ureaplasma urealyticum</i>,</li> <li>– <i>Streptococcus viridans</i> (<i>S. acidominimus</i>, <i>S. intermedius</i>, <i>S. morbillorum</i></li> </ul>

	– <i>Candida albicans</i>
Groupe III	Des hôtes usuels de la flore oropharyngée colonisent plus exceptionnellement la cavité vaginale. Cela est observé chez 0,1 à 2 % des femmes selon les bactéries en cause. Toutes les bactéries oropharyngées peuvent être isolées de la cavité vaginale, mais le plus souvent il s'agit de : – <i>Haemophilus influenzae et parainfluenzae</i> – <i>Streptococcus pyogenes</i> – <i>Streptococcus pneumoniae</i> – méningocoque et autres <i>Neisseria, Branhamella, Capnocytophaga</i>

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

La flore vaginale normale est en constante évolution et subit d'importantes modifications en fonction de l'âge.

#### 2.1. Des 1ères semaines de vie à la petite enfance :

Au cours des quatre à six premières semaines de la vie, la muqueuse vaginale est imprégnée d'œstrogènes maternels. Ainsi, la flore vaginale du nouveau-né est semblable à celle d'un adulte c'est-à-dire avec un pH acide, riche en glycogène et en lactobacilles. Puis rapidement, le vagin sera colonisé par une flore quantitativement pauvre, principalement composée de bactéries fécales ou cutanées (*Escherichia coli*, staphylocoques, divers entérocoques) et le pH vaginal sera neutre (entre 6 et 7) (Turovskiy *et al.*, 2011, Bergogne-Bérézin, 2007)

#### 2.2. Au moment de la puberté :

La puberté est marquée par une augmentation progressive des niveaux d'œstrogènes, conduisant à un épaissement de la muqueuse vaginale et une augmentation de la production de glycogène (Turovskiy *et al.*, 2011). Ainsi les *Lactobacillus* en dégradant ce glycogène, produisent de l'acide lactique qui permet l'acidification du milieu (pH voisin de 4) qui est un facteur de protection car cela engendre une augmentation des bactéries acidophiles (*Lactobacillus*) et une diminution des bactéries basophiles (pathogènes opportunistes) (Christel, 2015)

### **2.3. Au cours du cycle menstruel :**

De nombreux changements de la flore vaginale surviennent dans la première partie du cycle, on observe à cette occasion une diminution de la concentration lactobacillaire lors des premiers jours des règles et une augmentation du pH dû à la présence de sang et de son effet tampon (**Turovskiy et al., 2011**). Après les règles, la muqueuse vaginale perd sa couche intermédiaire : le pH revient à 4,5. La muqueuse se reconstitue, se remet à sécréter du glycogène et la population de lactobacilles augmente, ce qui a pour effet d'abaisser le pH. La flore vaginale retrouve donc une composition très voisine à celle du cycle précédant (**Christel, 2015**)

### **2.4. Chez la femme enceinte :**

Pendant la grossesse le pH devient très acide et la flore est simplifiée en étant encore plus riche en *Lactobacillus*, ce qui assure la protection du fœtus. Au cours du post-partum, le pH devient neutre, le potentiel redox est positif ainsi le portage de pathogènes est élevé avec un risque infectieux très haut (**Christel, 2015**)

### **2.5. Chez la femme ménopausée**

La ménopause est accompagnée d'une diminution de la sécrétion d'œstrogènes et d'une atrophie du vagin. Il apparaît donc un appauvrissement de la sécrétion de glycogène ce qui engendre une augmentation du pH vaginal et une diminution des *Lactobacillus* (**Turovskiy et al., 2011**).

## **3. Les mécanismes d'inhibition de la prolifération des germes pathogènes par les lactobacilles (bacilles de Döderlein) :**

### **3.1. La production d'acide organique (majoritairement acide lactique) :**

Le glycogène est une source carbonée importante dans le milieu vaginal : il est déposé dans l'épithélium vaginal par activation hormonale des œstrogènes, variable au cours du cycle menstruel. La flore de Döderlein, composée de lactobacilles, utilise le glycogène ou le glucose (produit de l'hydrolyse du glycogène par le tissu épithélial ou par les lactobacilles ou par d'autres micro-organismes) pour maintenir un pH vaginal bas voisin de



4 : fermentation en acides organiques dont majoritairement de l'acide lactique (**Boskey *et al.*, 1999**)

Le glycogène peut aussi être dégradé en acide lactique par les cellules de l'épithélium vaginal. Une étude a été réalisée montre que plus de 50 % de l'acide lactique retrouvé dans le milieu vaginal est de la forme isomérique D. Or, les cellules humaines ne peuvent synthétiser que la forme L de l'acide lactique, alors que les bactéries produisent les formes D ou L ou DL en mélange. Ainsi, les bactéries représentent la première source d'acide lactique dans le milieu vaginal (**Boskey *et al.*, 2001**)

### **3.2. La production de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) :**

Les lactobacilles producteurs de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) jouent un rôle essentiel dans l'équilibre de la flore vaginale : 96 % des femmes saines possèdent ces lactobacilles producteurs de  $H_2O_2$  (dont notamment *L. crispatus* et *L. jensenii*) alors que ces mêmes lactobacilles ne sont isolés que dans 3,5 % des femmes atteintes de vaginose bactérienne (**Eschenbach *et al.*, 1989**).

Les lactobacilles ne possèdent pas de cytochrome pour assurer la phosphorylation oxydative (réduisant  $O_2$  en  $H_2O$ ) mais utilisent des flavoprotéines pour l'oxydation terminale (convertissant  $O_2$  en  $H_2O_2$ ) (**McGroarty, 1993**)

Trois oxydases ont été détectées chez les lactobacilles : NADH oxydase chez *L. casei* et *L. plantarum* ; pyruvate oxydase chez *L. bulgaricus* et *L. plantarum* ; flavoprotéines  $\alpha$ -glycérophosphate oxydase chez *L. casei*. À ces enzymes, est couplée une NADH peroxydase qui transforme le  $H_2O_2$  et évite une auto-inhibition de la bactérie. Il est important de noter que l'oxygène joue un rôle important dans l'induction des enzymes oxydase et peroxydase. Un autre mécanisme de synthèse de  $H_2O_2$  a été détecté chez les lactobacilles : transformation de  $O_2^-$  et  $H^+$  en  $H_2O_2$  et  $O_2$  catalysée par des complexes enzymatiques manganèse (**Murphy & Condon, 1984**)

La toxicité du peroxyde d'hydrogène est due à un effet oxydatif exercé par la molécule elle-même ou par ses métabolites ( $OH$ ,  $O_2^-$ ). La conversion de  $H_2O_2$  en ces composés cytotoxiques peut être due à des agents réducteurs et des peroxydases présentes dans le fluide vaginal. Ces produits induisent la mort cellulaire par leur action sur les acides nucléiques, les protéines et autres molécules biologiques (**Ocana V, 1999**).

Le peroxyde d'hydrogène produit en excès par les lactobacilles, est excrété et peut alors inhiber ou tuer de façon non spécifique d'autres bactéries, particulièrement celles ne possédant pas le système catalase-peroxydase (**Eschenbach et al., 1989**)

L'effet bactéricide de  $H_2O_2$  est considérablement augmenté par le couplage peroxydase-ion halogénure en milieu acide (les ions halogénures sont présents dans les sécrétions biologiques de l'homme, comme par exemple, présence d'une très forte concentration en chlorure de sodium dans le mucus de l'utérus pendant l'ovulation) (**Klebanoff & Belding, 1974**)

Des études *in vitro* ont montré l'effet inhibiteur du  $H_2O_2$  produit par les lactobacilles en aérobie sur *G. vaginalis*, *E. coli* et *S. aureus* en particulier. Par ailleurs, de fortes concentrations en lactobacilles, producteurs de  $H_2O_2$ , en présence de peroxydase et d'halogénure, inhibent *in vitro* le virus HIV (**McGroarty, 1993**)

### **3.3. production des bactériocines et substances similaires : exemple de l'inhibiteur de catalase :**

De très nombreux auteurs ont extrait des peptides antimicrobiens de lactobacilles, comme la lactoline, l'acidoline, la lactocidine, la lactobacilline et l'acidophiline de *L. acidophilus*, la lactobrevine de *L. brevis* et la bulgaricane de *L. bulgaricus*. Certains lactobacilles, produisant du peroxyde d'hydrogène, synthétisent une bactériocine qui inhibe la catalase des gonocoques à pH acide, renforçant d'autant l'activité peroxydasique. Ainsi, les lactobacilles en combinant l'action du peroxyde d'hydrogène, l'acidification par l'acide lactique et de l'inhibiteur de la catalase, ont un très fort pouvoir anti-gonocoque (**Lepargneur & Rousseau, 2002**)

### **4. Déséquilibre de la flore vaginale :**

Lactobacilles dominant la microflore normale, mais ils coexistent avec une multitude d'autres espèces dont des pathogènes potentiels. Une rupture de cet équilibre peut être un facteur qui induit des infections (**Maggi et al., 2000**)

✚ Les causes de déséquilibre sont multiples :

- hormonales dans les cas de troubles de la sécrétion glyco-génique lors d'une grossesse, d'alcalinisation du milieu vaginal lors des périodes de menstruation, de la prise de contraceptifs oraux et de la ménopause,

- physiques dues à certaines habitudes sexuelles, une mauvaise hygiène intime, l'utilisation de spermicides (toxiques pour les lactobacilles), de diaphragmes, de dispositifs intra-utérins (leur utilisation fait augmenter le pH vaginal) et parfois de tampons,

- pathologiques dans le cas de patientes diabétiques ou immunodéficientes,

- iatrogènes induites par des traitements, par des antibiotiques (en particulier ceux de la famille des bêta-lactamines et des cyclines), par des corticoïdes ou immunosuppresseurs, par la prise d'ovules, par l'utilisation d'antiseptiques, par la radiothérapie et par des interventions chirurgicales (**Barbes & Boris, 1999**)

✚ Malgré la multiplicité des causes, l'origine réelle des déséquilibres de la microflore vaginale reste inconnue dans la majorité des cas (**Barbes & Boris, 1999**).

### 5. Les leucorrhées :

Les leucorrhées sont des écoulements non sanglants provenant de l'appareil génitale féminin, parfois liées à une sécrétion endocervicale trop abondante ou à une desquamation excessive du vagin, les leucorrhées sont très fréquentes en cas d'infection génitale (**Blanc et al., 2000**)

#### 5.1. Les leucorrhées physiologiques :

Elles sont blanches, visqueuses, non malodorantes, il n'y a pas de troubles fonctionnels associés et il n'y a pas de polynucléaires au niveau du prélèvement vaginal qui retrouve une flore polymorphe avec de nombreux lactobacilles de Doderlein (**Gachot et al., 2004**).

#### 5.2. Leucorrhées pathologiques :

Les leucorrhées pathologiques sont accompagnées par un cortège de signes associés. Les signes fonctionnels sont fréquents : prurit, brûlure, douleurs génitales. Leur couleur est variable : jaunâtre, verdâtre ou grisâtre (**Larrègue et al., 2004**)

L'examen de la cavité vaginale au spéculum montre une leucorrhée de volume important au niveau des culs-de-sac : 2 à 4 ml ou plus. Elle est fluide, homogène, grisâtre à jaunâtre, rarement purulente, souvent bulleuse (**Durieux et al., 1980**)

### 6. Les principales infections vaginales :

Initialement, le terme vaginite a été utilisé pour désigner tout processus inflammatoire impliquant le vagin et se traduisant par des leucorrhées malodorantes ou non, un prurit, des brûlures vulvo-vaginales et/ou une dyspareunie. Ensuite, le groupe des vaginites a été étendu aux infections, se manifestant par des leucorrhées anormales, même en l'absence de toute réaction inflammatoire vaginale.

#### 6.1. Infections à *Trichomonas vaginalis* :

La Trichomonase causée par *T. vaginalis* est l'une des maladies sexuellement transmissibles non virales les plus fréquentes, souvent propagée par contact sexuel avec les sécrétions vaginales ou urétrales des personnes infectées (**Petrin et al., 1998**). Aussi la transmission de microorganismes par insémination artificielle de sperme infecté cryoconservé est aussi possible (**Sherman et al., 1991**). La transmission autre que par voie sexuelle est rare mais a été observée dans des cas impliquant des embouts de douche vaginale, des lingettes humides, des spéculums et des sièges de toilette contaminés (**Peterson & Drame, 2010**).

L'infection peut persister sur de longues périodes de temps dans le tractus génito-urinaire des femmes. De 25 à 50 % des cas sont asymptomatiques pendant les 6 premiers mois de l'infection, et les microorganismes peuvent survivre indéfiniment dans la partie inférieure du tractus génito-urinaire si l'infection n'est pas traitée (**Swygard et al., 2004**).

Les symptômes sont notamment les suivants : sécrétions vaginales rares et mélangées à du mucus, écoulements malodorants spumeux jaunâtres ou verdâtres, mucopurulents et abondants (**Cudmore et al., 2004**)

Période d'incubation : Entre 3 et 28 jours, avec une moyenne de 7 jours (**Webber, 2009**)

*Trichomonas vaginalis* est un protozoaire flagellé parasite de taille variable mais habituellement autour de 10 µm de longueur et 7 µm de largeur (**Petrin et al., 1998**, **Muresu et al., 1994**). Il prend d'ordinaire une forme ovale ou de poire, mais peut aussi prendre une forme amiboïde lorsqu'il est attaché aux cellules de l'épithélium vaginal. *T. vaginalis* comporte au total 5 flagelles, dont quatre sont situés sur sa partie antérieure. Le cinquième flagelle est incorporé dans la membrane ondulée (**Petrin et al., 1998**).

Le parasite anaérobie ne peut exister que sous forme de trophozoïte et sa croissance ne comporte aucune étape cystique; il se reproduit en effet par fission binaire longitudinale.

La croissance est optimale à 37 °C à un pH de 6,0 à 6,3, mais il peut survivre à un pH allant jusqu'à 7, *T. vaginalis* est généralement restreint au tractus génito-urinaire par le système immunitaire de l'hôte (Cudmore et al., 2004)

Le protozoaire peut être trouvé dans le vagin, le col de l'utérus, la vessie. Les complications peuvent entraîner une érosion cervicale, un cancer du col de l'utérus, l'infertilité, une annexite, un pyosalpinx et une endométrite. Une rupture prématurée des membranes placentaires peut survenir chez les femmes enceintes, avec pour conséquence une naissance prématurée et un faible poids à la naissance (Sutton et al., 2007)

### 6.2. Infections à *Neisseria gonorrhoeae* :

La transmission du gonocoque est presque exclusivement sexuelle et il existe des porteurs asymptomatiques. Chez la femme, *N. gonorrhoeae* est responsable de cervicite, d'urétrite et d'éventuelles complications locorégionales, ainsi que d'infections extra génitales locales ou disséminées. Chez le nouveau-né, il est retrouvé dans le vagin chez la fillette (à l'origine de vaginite), car le pH y est moins acide que chez la femme et les lactobacilles sont peu présents (Émile, 2009).

*Neisseria gonorrhoeae* : diplocoque Gram négatif, oxydase-positif, ont la capacité d'utiliser le glucose, maltose, lactose, saccharose et le fructose, réduire le nitrate, produire du polysaccharide de saccharose, La capacité à fermenter différents sucres est traditionnellement déterminée en utilisant un milieu d'agar cystine trypticase conventionnel (CTA) contenant 1% de sucre. Est un pathogène humain obligatoire et l'agent étiologique de la gonorrhée. Les syndromes comprennent la cervicite chez les femmes et l'urétrite, la pharyngite et la proctite chez les deux sexes. Si elles ne sont pas traitées, les femmes peuvent présenter des séquelles graves de maladie inflammatoire pelvienne, de douleur pelvienne chronique, de grossesse extra-utérine et d'infertilité tubaire (Ng & Martin, 2005)

### 6.3. Infections aux Mycoplasmes :

Ces très petites bactéries sans paroi rigide, *Mycoplasma hominis* et *Mycoplasma urealyticum* sont la plupart du temps des commensaux des voies génitales et leur rôle pathogène au niveau de l'appareil génital supérieur n'a jamais été formellement établi par contre *M. genitalium* n'est jamais présent à l'état commensal dans la flore vaginale et doit être considéré comme pathogène (Judlin & Thiebaugeorges, 2009)

Les mycoplasmes sont des bactéries Gram négatif intracellulaires ubiquitaires pléomorphes qui appartiennent à la famille des Mycoplasmataceae (**Pitcher & Nicholas, 2005**). La plupart des mycoplasmes sont mobiles et se déplacent par glissement plutôt que par un mouvement ondulatoire des poils ou des flagelles, Au lieu d'une paroi cellulaire, les mycoplasmes possèdent une triple membrane qui contient du stérol provenant de l'environnement. La plupart des mycoplasmes sont des bactéries anaérobies facultatives, bien que certains soient des bactéries anaérobies strictes. (**Jensen, 2006**)

- ***Mycoplasma hominis* :**

Est une bactérie Gram négatif intracellulaire pléomorphe mesurant entre 0,2 et 0,3  $\mu\text{m}$  de diamètre (**Pitcher & Nicholas, 2005**). *M. hominis* est associé à la muqueuse génito-urinaire .En milieu de culture, *M. hominis* produit des colonies ressemblant à des « œufs poêlés » et métabolise l'arginine. *M. hominis* entretient une relation symbiotique avec *Trichomonas vaginalis* (**Jensen, 2006**)

- ***Mycoplasma urealyticum* :**

Sont des bactéries Uréase positive qui se présentent sous la forme de cellules sphériques ou coccoïdes ovoïdes; ce sont les micro-organismes autoreproducteurs les plus petits, leur diamètre variant entre 0,2 et 0,8  $\mu\text{m}$  (**Thirkell et al., 1989**)

#### **6.4. Infections à Chlamydia :**

Après transmission sexuelle, *C. trachomatis* se localise au niveau de l'appareil génital bas et infecte particulièrement les cellules épithéliales de l'endocol(**Stock & Henrichfreise, 2012**). Elle est l'infection bactérienne sexuellement transmissible (IST) la plus répandue dans le monde avec environ 89 millions de nouveaux cas par année. Facilement traitées mais fréquemment asymptomatiques. Si elles ne sont pas traitées, les conséquences à long terme peuvent être graves : maladie inflammatoire pelvienne (MIP), grossesse ectopique et facteur d'infertilité tubaire (**Novak et al., 2003**).

Chlamydia est l'agent pathogène bactérien sexuellement transmis le plus commun, causant une myriade de maladies qui peuvent empiéter sévèrement sur la fertilité femelle et la santé des nouveau-nés. (**Ibana et al., 2018**)

### 6.5. Infections à *Candida albicans* :

Les candidoses sont des infections fongiques dont la fréquence a très nettement augmenté ces 20 dernières années. Le genre *Candida* renferme plus de 200 espèces dont seulement 12 sont responsables de maladies. *Candida albicans* a été pendant longtemps l'espèce la plus pathogène (**Dieng et al., 2012**). La candidose vulvo-vaginale (CVV) est une infection mycosique très répandue qui affecte une large proportion de femmes en âge de procréer, caractérisée par un prurit vulvaire et des leucorrhées blanchâtres, caillebotées. *Candida albicans*, une levure commensale du tractus génital et gastro-intestinal (**Amouri et al., 2010**).

Est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (**Chu et al., 1993**). Se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore). A un vrai mycélium, ce mycélium spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (**Gow, 2002**). Est une levure commensale des muqueuses digestives et génitales, parfois retrouvée sur la peau (**Bernard et al., 2017**).

### 6.6. Vaginose bactérienne :

La Vaginose bactérienne est une anomalie de la flore bactérienne vaginale qui se définit par la disparition des lactobacilles (également appelés bacilles de Döderlein) et leur remplacement par des bactéries anaérobies, souvent associées à *Gardnerella vaginalis* et/ou à des mycoplasmes urogénitaux. Dans la majorité des cas, cette modification est totalement asymptomatique (**Klebanoff et al., 2004**)

Les signes cliniques d'accompagnement sont pauvres et parfois absents, les patientes ne se plaignent que de pertes abondantes et nauséabondes (**Sedallian & Antoniotti, 1995**)

*Gardnerella vaginalis* est un bacille d'apparence granuleuse. La paroi de cette bactérie présente des similitudes avec celle des bactéries gram positif mais la coloration nous donne un gram variable ou négatif. Elle est immobile, aéro-anaérobie facultatif, dépourvue de catalase et d'oxydase et à métabolisme fermentatif, après 48 heures d'incubation dans une atmosphère humide et enrichie en CO<sub>2</sub>. Et sur gélose Columbia au sang de mouton, les bactéries se présentent comme de très petites colonies rondes, opaques, lisses et sans

hémolyse. Par contre, on peut voir une hémolyse de type bêta sur les géloses à *Gardnerella. G. vaginalis* a pour habitat le vagin de la femme. Vingt à 40% des femmes sont des porteuses saines. Alors que l'infection se transmet principalement par voie sexuelle, dans de rares cas, elle peut se trouver chez des femmes vierges. Elle est souvent la cause de vaginoses, soit comme seul germe pathogène soit en association avec des bactéries anaérobies (Klebanoff et al., 2004)

### **6.7. Infections par germes banaux :**

De nombreux cas de vaginites sont associés à un déséquilibre de l'écosystème bactérien du vagin, on assiste à une diminution du nombre des lactobacilles accompagnée d'une augmentation des bactéries présentes normalement en petits nombres (Fauchère, 1997).

Les germes responsables sont multiples : entérocoques, streptocoques ...etc

#### **6.7.1. Les entérobactéries :**

La famille des enterobacteriaceae comprend des genres bactériens possédant en commun les caractères suivants : bacilles de 2 à 6 µm de long sur 0.3 à 0.5 µm de large, immobiles ou plus fréquemment mobiles grâce à une ciliature péritriche, croissance en aérobie ou anaérobie, oxydase (-), réduction des nitrates en nitrites, culture sur milieu ordinaire (Larpen, 2000)

##### **6.7.1.1 : *E coli* :**

Sont des bacilles à Gram négatif, non sporulant, produit de l'indole à partir du tryptophane, n'utilise pas le citrate comme source de carbone (Cohen & Karib, 2006) sont aéroanaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase (Le Minor et al., 1990). *E. coli* appartient à la microflore commensale de l'homme et de nombreux animaux, c'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux (Gordon & Cowling, 2003). Elles sont responsables : d'infection intestinale, d'infection extra-intestinale, infection urinaires, méningites et septicémies (Béraud, 2001).

##### **6.7.1.2 *Klebsiella pneumoniae* :**

Sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (El Fertas-Aissani et al., 2013).



*K. pneumoniae* se développe en aéro-anaérobiose. Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactérie (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, EMB) après une incubation de 18 à 24 h à 30 ou à 37 °C, les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm, ronde, lisses, lactose positives, bombées, brillantes, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine (Fatma, 2014). est une espèce pathogène opportuniste (Brisse & van Duijkeren, 2005).

*K. pneumoniae* est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales en général et néonatales particulièrement (Boukadida *et al.*, 2002). Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (Boll *et al.*, 2012).

### 6.7.1.3 *Proteus mirabilis* :

Sont des bacilles à gram négatifs, très polymorphes à forme filamenteuse aspérule, en milieu gélosé, les *Proteus* sont capables d'envahir la surface du milieu en formant des ondes concentriques. Ses caractères biochimiques sont :  $\beta$ -galactosidase -, LDC-, ADH-, H<sub>2</sub>S+, tryptophane désaminase+, phénylalanine+ et gélatinase+ (Singleton, 1999). Sont des hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux, ces bactéries sont responsables d'infections urinaires, septicémies, sont aussi isolées de produits pathologiques variés : Vaginose, brûlures (Avril *et al.*, 1992).

### 6.7.1.4 *Serratia sp* :

Sont des bâtonnets Gram négatif qui mesurent 0,9 à 2  $\mu$ m de longueur et 0,5 à 0,8  $\mu$ m de diamètre (Van Houdt *et al.*, 2007). Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes (Biedenbach *et al.*, 2004). Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie (Van Houdt *et al.*, 2007).

### 6.7.1.5 *Enterobacter cloacae* :

Sont des bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1  $\mu$ m de diamètre et 1,2 à 3  $\mu$ m de longueur; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche (Hart, 2006). Présent dans l'environnement, peut être retrouvé au niveau du sol, de l'eau, des plantes et des animaux (Araújo *et al.*, 2002). Ce complexe est également retrouvé au niveau de la flore normale du tractus gastro-intestinal de l'homme. Présent à l'état commensal, il est capable de passer à l'état pathogène opportuniste essentiellement chez les patients dont les défenses immunitaires sont diminuées (Guérin, 2015).

### 6.7.2. *Streptococcus* sp :

ont une forme sphérique ou ovoïde et sont habituellement disposés en paires ou en chaînettes, ils sont Gram positif, non mobiles, asporulés, catalase-négative et anaérobies facultatifs.(Veringa *et al.*, 1995).

#### 6.7.2.1. *Streptococcus agalactiae* du groupe B :

est une bactérie Gram positif anaérobie facultative, il est habituellement disposé en paires ou en chaînes comptant jusqu'à 50 cellules ou plus, il a une forme ovoïde et mesure habituellement 0,5-1,0 par 1,0-2,0  $\mu\text{m}$ , il est  $\beta$ -hémolytique sur gélose au sang (Karunakaran *et al.*, 2009). Ces bactéries sont responsables d'infections périnatales précoces et grave , pour les femme provoquent des vaginites et des cervicites (Beraud, 2004)

#### 6.7.2.2. *Streptococcus pyogènes* du groupe A :

Est une bactérie aérobie à Gram positif, Il est constitué de coccus non mobiles et non sporulés de moins de 2  $\mu\text{m}$  de longueur, disposés en chaînettes et formant de grosses colonies de plus de 0,5 mm il présente un profil de croissance bêta-hémolytique sur gélose au sang. Il existe plus de 60 souches de cette bactérie (Bessen, 2009). Provoquent des ulcères vulvo-vaginites (Avril *et al.*, 1992).

#### 6.7.2.3. *Streptococcus* du groupe D ou entérocoques :

Sont des cocci ovoïdes gram positif, dispose par paires ou en chainettes , aéroanaérobies facultatifs ,homofermentaires , catalase négative , la présence chez les entérocoques d'un acide techoïque de paroi porteur de l'antigène D les rapproche plus particulièrement des streptocoques du groupe D , ils se distinguent du genre streptocoques par a croissance dans les milieux hypersalés et l'hydrolyse de l'esculine (Beraud, 2004)

### 6.7.3. *Staphylococcus* sp :

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des agents pathogènes de l'homme et d'autres mammifères. Traditionnellement, ils ont été divisés en deux groupes sur la base de leur capacité à coaguler le plasma sanguin (la réaction de la coagulase). Les staphylocoques à coagulase positive constituent l'espèce la plus pathogène *S aureus* .Les staphylocoques à coagulase négative (CNS) sont maintenant connus pour comprendre plus

de 30 autres espèces. Les SNC sont des commensaux communs de la peau, bien que certaines espèces puissent causer des infections. Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif d'environ 0,5 à 1,0 µm de diamètre. Ils poussent en grappes, en paires et parfois en chaînes courtes (**Baron, 1996**).

### **7. Autre germes rarement impliqués dans les infections vaginales :**

#### **7.1. *Prevotella sp* :**

Sont des bactéries à Gram négatif, anaérobies strictes, non pigmentant, ne formant pas de spores, non mobile (**Sakamoto et al., 2007**). Ces bactéries, qui font partie de la flore orale, intestinale et urogénitale humaine, peut être impliqué dans diverses infections de la tête et du cou, plus bas voies respiratoires, système nerveux central, abdominale et voies génitales féminines et dans la bactériémie (**Alauzet et al., 2007**)

#### **7.2. *Bacteroides sp* :**

Sont des bacilles à gram négatif encapsulés anaérobies stricts non sporulés, à coloration pâle, tandis que d'autres taxons ne sont pas mobiles (**Ryan et al., 2004**) . Les espèces du genre *Bacteroides* sont des bactéries anaérobies souvent associées à des infections chez l'humain (**Madigan et al., 2000**). Avec d'autres anaérobies stricts ou facultatifs, ils sont à l'origine de la plupart des abcès localisés dans le crâne, le thorax, le péritoine, le foie et les voies génitales féminines (**Ryan et al., 2004**)

#### **7.3. *Haemophilus sp*:**

Sont des petits bacilles à gram négatif immobiles, aéro-anaérobies facultatifs, les *Haemophilus* font partie de la flore normale des voies respiratoires et de cavité buccale de l'homme, ils peuvent aussi être présents au niveau des muqueuses génitales :

- ***Haemophilus influenzae*** : est une bactérie pyogène qui provoque des infections graves, tout particulièrement méningites, Vaginose (**Denis et al., 2011**)

#### **7.4. *Clostridium perfringens* :**

Un microorganisme anaérobie Gram positif, sporulé (**Ali Nasir et al., 2015**). Cette espèce bactérienne cosmopolite se trouve dans le tube digestif de toutes les espèces animales et de l'homme ainsi que dans le sol , sa capacité de sporulation lui permet de mieux résister dans le milieu extérieur et donc de se propager (**Daube, 1992**)

### 7.5. *Listeria monocytogenes* :

Est un coccobacille Gram positif, facultativement anaérobique en forme de bâtonnet, qui mesure habituellement de 0,5 à 2 µm de longueur et 0,5 µm de diamètre (**Low & Donachie, 1997**). *L. monocytogenes* est capable de croître à faible température et à un pH entre 4,3 et 9,6 et peut se reproduire à des températures situées entre 1 et 45 °C (**Szyfres & Acha, 2003**).

### 7.6. *Actinomyces sp* :

Le genre *Actinomyces* appartient à la famille des Actinomycetaceae. Il s'agit de bacilles gram positif de 0,4 à 1,0 µm droits, incurvés ou pléomorphes, et apparaissant individuellement, en paires, en grappes ou en chaînettes courtes. Les filaments (qui peuvent atteindre jusqu'à 50 µm de longueur), qui sont non acido-résistants et non mobiles, ne forment pas d'endospores ni de conidies, et se cultivent bien dans un milieu contenant du carbonate de sodium (**Hall, 2008**). Ils colonisent les cavités buccale et vaginale, responsables de Vaginose bactérienne (**Pilet et al., 1975**).

### 7.7. *Peptostreptococcus sp* :

sont des coques anaérobies, non sporulées, Gram positif, mesurant 0,3 à 1,8 µm de diamètre selon l'espèce, ils se présentent habituellement en chaînes, en paires, en tétrades ou en grappes, Les peptostreptocoques font partie de la flore microbienne normale de la bouche, des voies respiratoires supérieures, du tube digestif, du système génito-urinaire de la femme et de la peau (**Murdoch, 1998**)

## 8. Les facteurs de risques des infections vaginales :

### 8.1. Facteurs de risque du Vaginose bactérienne :

- **Les facteurs endogènes** : Troubles hormonaux, l'ethnie, le stress, états pathologique (diabète, obésité),
- **Les facteurs exogènes** : tabac, les douches vaginales, rapports sexuels fréquents, Médicaments ou dispositifs à usage local, la contraception, les produits intra-vaginaux (**Christel, 2015**)

### 8.2. Facteurs de risque de la candidose vulvo-vaginal :

la grossesse, l'hygiène fréquente, les avortements multiples, la contraception orale, le diabète, le stérilet, le préservatif, l'antibiothérapie et les vêtements serrés (**Anane et al., 2010**).

### 8.3. Facteurs de risque de Trichomonase :

- De multiples partenaires sexuels;
- Rapports sexuels non protégés;
- Une mauvaise hygiène des organes génitaux;
- Les substances chimiques qui constituent les produits d'hygiène personnelle;
- Médicament administré par injection;
- Des dispositifs intra-vaginaux;
- Fréquentes douches vaginales;
- Sous-vêtements trop serrés;
- Sous-vêtements faits de matières textiles irritant;
- La radiothérapie pelvienne;
- Contaminé papier toilette,
- Spermicides(**Fouts & Kraus, 1980**)

## 9. Les antibiotiques :

Agents antibactérien synthétiques et/ou semi-synthétiques. Le mot antibiotique fut crée en 1889 par Paul Vuillemin. Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémi synthèse (**Bryskier, 1999**)

### 9.1. Classification :

La classification des antibiotiques repose sur leur structure chimique et leurs mécanismes d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité (**Yala et al., 2001**)

### 9.2. Mode d'action :

- Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane)
- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne ;

- Action sur la synthèse protéique bactérienne ;
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie ;
- Action sur la synthèse des folates (Yala et al., 2001).

### 9.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques :

- Les Staphylocoques résistantes aux beta-lactamines
- Les Streptocoques résistante aux beta-lactamines et l'érythromycine (Karunakaran et al., 2009)
- Entérobactéries sensibles à la gentamicine, amikacine et l'imipènème et résistante

### 10. Traitements et intervention pharmacologique :

#### Pour la candidose :

- **Un traitement local :**

Alcalinisation vaginale:Hydralin.

En cas de lésions périméales associées : Pevaryl lait, Daktarin.

- **Un traitement général :**

En cas d'atteinte digestive associées ou de récurrences fréquentes :Daktarin :8 comprimés /j pendant 10 jours .

- **Un traitement du partenaire :** antifongique local en gel ou en lait dans le sillon balanopréputial pendant 10 jours.

#### Pour la trichomonase :

- **Un traitement local :**

toilette avec savon acide : Lactacyd;

ovules nitro-imidazolés : Flagyl1 à 2 ovules/j pendant 10 jours, Atrican 1 à 2 ovules/j pendant 10 jours ;

- **Un traitement général :**

Fasigyne 500:4 comprimés en une prise ;Flagyl : 2 comprimés/j pendant 10 jours ;

- **Le traitement du partenaire ;** L'absence sexuelle (Cudmore et al., 2004)

#### Pour la vaginose bactérienne :

Le traitement est un traitement général :

Fasigyne 500: 4 comprimés en 1 prise ;

Flagyl : 4 comprimés/j pendant 7 jours.(Sedallian & Antoniotti, 1995)

### **Matériels et méthodes :**

#### **1. Problématique et objectifs :**

Les infections vaginales constituent l'une des plaintes les plus fréquentes de consultation médicales chez la femme. Les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés dans les infections génitales sont les levures, les trichomonas et les germes banaux.

Le diagnostic des infections vaginales se repose sur le contexte clinique du malade suivi par l'isolement et l'identification des principaux germes incriminés, l'identification est habituellement basée sur des testes biochimiques classiques, souvent un antibiogramme est établi vis-à-vis des bactéries isolées pour instaurer le traitement convenable.

Dans notre région, vu l'absence des laboratoires de microbiologie dans les établissements publics de santé, peu d'études s'est focalisées sur ces infections, et les résultats des analyses obtenus chez laboratoires appartiennent au secteur privé ne sont pas documentés. Dans cette optique que s'inscrit notre problématique qui traite les questions suivantes : Quelle est la fréquence des infections vaginales chez la population résidante dans notre wilaya, quels sont les germes couramment isolés des échantillons des leucorrhées chez les malades, quels sont les circonstances et les facteurs de risques entourant ces infections.

Afin de soulever cette problématique et répondre aux questions citées ci-dessus que nous avons mené cette étude visant les objectifs suivant :

- Isolement et identification des principaux germes à partir des prélèvements de pertes vaginales.
- Détermination de la sensibilité ou la résistance des souches aux antibiotiques vis-à-vis de certaines familles d'antibiotiques.
- Discuter les principaux facteurs de risque entourant cette problématique des infections vaginales

#### **2. Cadre et lieu d'étude :**

Ce travail rentre dans la préparation de mémoire de master spécialité de microbiologie appliquée.

Notre étude a été réalisée au niveau de deux laboratoires : L'un appartient au secteur étatique : le laboratoire de bactériologie à l'hôpital Fares Yahia de Miliana et un autre laboratoire privé de Dr. Zibouche de Ain Defla.

Notre étude s'est étalée sur une période de trois mois s'étendant de février jusqu'au mai 2018.

### 3. Matériel utilisé :

- **Matériel non biologique** : voir annexe 03
- **Matériels biologique** :

Pertes vaginales des patients (leucorrhées), les leucorrhées provenant de patientes qui consultent des gynécologues privés et des patientes hospitalisées dans les différents services de l'hôpital (gynécologie, maternité). Durant notre étude, nous avons pu récupérer et analyser 50 prélèvements génitaux de pertes vaginales (PV).

### 4. Conditions de réalisation prélèvement vaginal :

Les prélèvements génitaux féminins sont effectués par le gynécologue selon une technique bien codifiée (**benslimani A . 2001**). Le prélèvement est pratiqué soit au laboratoire, soit lors d'une consultation gynécologique. Il est alors amené rapidement au laboratoire.

Les conditions de prélèvement se résument en :

- Pas de traitement antimicrobien local ou général depuis au moins 3 jours.
- Pas de toilette génitale depuis 6 h au moins.
- Pas de rapport sexuel depuis 3 jours.
- La femme se présente immédiatement avant ou après la menstruation et pas pendant.

### 5. Technique de prélèvement :

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



- Les sécrétions vaginales sont prélevées à l'aide des écouvillons stériles en coton ou avec du spéculum.

Nous avons reçu des échantillons de six écouvillons prélevés au niveau de 3 sites : l'endocol, Cul de sac et l'exocol. Chez les patientes ayant une activité sexuelle, le site de prélèvement est bien précisé pour chaque écouvillon.

En plus, d'autres prélèvements réalisés par deux écouvillons qui ciblent les zones d'inflammation de la région vulvaire. Pour ces deux écouvillons, les prélèvements ont été réalisés au niveau des sécrétions purulentes chez les patientes n'ayant pas une activité sexuelle. (Tableau 02)

Nous avons procédé à l'ensemencement des écouvillons arrivés au niveau du laboratoire, selon les sites de prélèvement. Cette précaution est particulièrement prise en compte surtout pour les prélèvements issus des femmes mariées (**Carbonnelle et al., 1987**)

**Tableau 02 :** Procédure de réalisation et d'analyse des prélèvements cervico-vaginales (**Cravello, 2001**)

Site de prélèvement	Nombre écouvillons	Tests	Incubation
Endocol	1 <sup>er</sup> Ecouvillon	-pour l'examen direct	
	2 <sup>ème</sup> Ecouvillon	-pour l'isolement des : <i>Neisseria Gonorrhoeae</i> , Levures, Mycoplasmes	Se fait à 37°C pendant 24 à 48h
Exocol	1 <sup>er</sup> Ecouvillon	-pour l'examen direct	
	2 <sup>ème</sup> Ecouvillon	-Pour l'isolement des Germe banaux et Levures	Se fait à 37°C pendant 24h
cul-de-sac	1 <sup>er</sup> Ecouvillon	Pour l'examen direct <i>Trichomonas vaginalis</i> Clue-celle Levure	
	2 <sup>ème</sup> Ecouvillon	Pour la mycologie	Se fait à 37°C pendant 24h jusqu'à 72h

Pour la jeune fille les écouvillons reçus lors du prélèvement seront traités selon la procédure décrite dans le tableau 03 :

**Tableau 03 :** Analyse microbiologique du prélèvements vulvaires.(Cravello, 2001)

Site de prélèvement	Nombre écouvillons	Germes recherchés	Examens effectués	Incubation
Vulve	1 <sup>er</sup> écouvillon	-Germes banaux (streptocoques, Staphylocoques, Entérobactéries). -Levures	Ensemencer : -1 milieu gélosé au sang frais. -1 milieu Chapman. -1 milieu Hektoen. -1 milieu gélose MH	37°C/24h
	2 <sup>ème</sup> écouvillon	-Examens directs + recherche de levures	-examen direct à l'état frais. -frottis coloré au Gram. -ensemencer sur milieu : sabouraud	37°C/24h- 72h

### 6. Transport et stockage :

Le diagnostic des infections bactériennes vaginales s'effectue avant tout à l'examen direct. Le prélèvement vaginal ne nécessite pas l'utilisation de milieu de transport s'il peut être transmis rapidement au laboratoire. S'il doit être conservé une douzaine d'heures au maximum au réfrigérateur, il faut éviter sa dessiccation, il est possible de mettre quelques gouttes d'eau salée à 0,9 % stérile dans le fond du tube (Denis *et al.*, 2012)

### 7. Examen cytobactériologique des PV (E.C.B) :

Globalement, sur chaque prélèvement nous avons effectué des analyses cytologiques portant sur des examens macroscopiques et microscopiques, et des analyses bactériologiques pour rechercher la présence d'éventuels germes infectieux. Pour les cultures bactériennes positives, après leur purification, une identification suivie par un antibiogramme a été effectué.

### 7.1. Observation macroscopique :

L'examen macroscopique fait préciser les caractéristiques de la leucorrhée (couleur, odeur, aspect). Selon les caractéristiques macroscopiques les germes suivants sont suspectés :

- *Candida albicans* (couleur blanchâtre, épaisses, peu abondantes) ;
- *Trichomonas vaginalis* (couleur verdâtres, nauséabondes, abondantes) ;
- *Gardnerella vaginalis* (couleur grisâtre) (**Gachot et al., 2004**).

### 7.2.Examen microscopique :

#### 7.2.1. Etat frais :

L'examen direct à l'état frais qui concerne les écouvillons du vagin, permet de dépister la présence de *Trichomonas vaginalis*. Aussi, il permet d'apprécier la morphologie et l'abondance des bactéries, et d'observer leur mobilité et ainsi de rechercher la présence de levures, de cellules épithéliales, de polynucléaires et de globules rouges.

Selon la technique de (**Vandepitte et al., 1994**) , les sécrétions vaginales sont diluées dans quelques gouttes d'eau physiologique stérile puis en les déposant sur une lame de nageotte propre et sèche à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, tout en respectant les règles de stérilisation. La préparation est recouverte d'une lamelle et examinée au microscope optique à l'objectif x40.

#### 7.2.2. Coloration de Gram :

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

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

- Le frottis coloré au Gram est préparé en faisant rouler doucement l'écouvillon (du vagin) sur une lame de verre plutôt qu'en l'étalant ;
- Le frottis est fixé à l'air chaud;
- Le frottis est ensuite recouvert de la solution Violet de Gentiane pendant 30 secondes à 1 minute ;
- Après avoir lavé à l'eau, la préparation est recouverte de Lugol pendant 1 minute puis on rince ;

- On décolore à l'alcool (70°) en le laissant coulé goutte à goutte sur le frottis inclinée ;
- On rince à l'eau et on recouvre la lame avec la Fuschine diluée et on laisse 1 minute ;
- La lame est lavée à l'eau et séchée
- On examine la lame au microscope à l'objectif x100 après avoir ajouté l'huile de vaseline.

### 7.2.3. Lecture :

Les bactéries colorées en violet ont gardées leur coloration primaire grâce à leur paroi épaisse et pauvre en lipide, qui ne laisse pas l'alcool passer, ce sont les Gram positifs. Les bactéries colorées en rose ont perdu leur première coloration à cause de leur paroi riche en lipide, qui laisse diffuser l'alcool qui à son tour décolore le contenu intracellulaire, ce sont les Gram négatifs.

### 7.3. Examen bactériologique :

#### 7.3.1. Mise en culture :

La culture est réalisée le premier jour du prélèvement à partir de deux écouvillons pour les femmes mariées (exocol et endocol) et d'un écouvillon pour les jeunes filles.

Selon (**Marchal *et al.*, 1982**) l'ensemencement est effectué sur les milieux de cultures suivants :

- **Gélose nutritive** : milieu ordinaire permettant la culture de toutes les bactéries non exigeantes.
- **Gélose Hektoen** : milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries par la présence de sels biliaires qui assurent le pouvoir sélectif.
- **Gélose Chapman** : milieu de choix pour l'isolement des *Staphylococcus* et d'autres germes halophiles tels que *Micrococcus* et *Enterococcus* par la présence d'une forte concentration en NaCl qui assurent le pouvoir sélectif.
- **Gélose au sang** (milieu enrichi) :
  - **Gélose au sang frais** : milieu d'enrichissement sur lequel les streptocoques se développent très bien par leur action hémolytique.

- **Gélose au sang cuit** : c'est un milieu d'enrichissement qui permet, en portant le sang à une température voisine de 75°C, de neutraliser les inhibiteurs naturels aux quels certains bactéries peuvent être sensibles. De plus les facteurs de croissance (extrait de levures) sont libérés dans le milieu grâce au chauffage.

- **Gélose Sabouraud-Chloramphénicol** : le milieu Sabouraud additionné au chloramphénicol est une gélose inclinée en tube, recommandée pour l'isolement des levures et autres champignons. Le chloramphénicol est un antibiotique qui inhibe la croissance des bactéries.

### **7.3.2. Technique d'ensemencement :**

Dans une boîte contenant le milieu de culture, et à l'aide d'un écouvillon de chaque prélèvement, nous ensemençons par la méthode de stries, tout en respectant les précautions de stérilisation, puis nous incubons les boîtes dans une étuve.

- L'incubation des milieux Hektoen et Chapman se fait à 37°C pendant 18 à 24heures.
- Pour les géloses au sang (cuit et frais), l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures, en utilisant la jarre à bougie avec un morceau de coton humide pour créer l'anaérobiose et une atmosphère humide.
- L'incubation de milieu Sabouraud-chloramphénicol se fait à 37°C pendant 24 à 72 heures.

### **7.3.3. L'identification macroscopique :**

La lecture macroscopique se fait après l'incubation et les modifications sur les milieux de culture ensemencés. L'examen macroscopique repose sur l'observation des colonies à l'œil nu. Elle est basée sur l'aspect des colonies (lisse, rugueux, contour régulier ou irrégulier), la forme générale (bombées, plate) et la couleur (blanchâtre, opaque ou translucide...). L'abondance des colonies est aussi notée car on ne prend en considération que les boîtes contenant plus de 10 colonies.

### **7.3.4. L'identification microscopique :**

Cette identification est réalisée sur des lames ayant subits une coloration de Gram. Ces lames ont été préparées par un prélèvement d'une colonie isolée sur le milieu d'ensemencement puis on la met en suspension dans une goutte d'eau physiologique puis on étale la lame et on continue avec les étapes de la coloration.

La lecture est basée sur la couleur (les bactéries colorées en violet sont les bactéries Gram positifs, celles colorées en rose sont les Gram négatifs), la forme (rondes, ce sont des cocci; en bâtonnet, ce sont des bacilles), le mode de regroupement (les cocci Gram positif en amas, ou en grappes de raisin sont les staphylocoques, les cocci Gram positif en chaînette sont les streptocoques)...etc.

Concernant les germes qui se cultivent mal sur les milieux de culture, un enrichissement est nécessaire. On peut utiliser le milieu BHIB pour les staphylocoques ou le BGT pour les streptocoques.

### 7.3.5. L'identification biochimique :

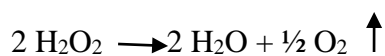
Les tests président ne suffisent pas pour identifier définitivement une bactérie. Pour cela, l'identification biochimique consiste à mettre en évidence quelques caractères qui permettront de bien ranger le germe isolé. Ces tests permettant d'étudier l'équipement enzymatique des bactéries.

#### 7.3.5.1. L'identification biochimique des cocci à Gram positif :

##### ✚ Test d'orientation : test de catalase

- **Principe :**

Elle a pour but la différenciation entre les staphylocoques et les streptocoques ,Selon (Singleton, 2005) , la catalase est une enzyme contenant de fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on eau et en oxygène, comme indique la réaction suivante :



- **Technique :**

Sur une lame propre et sèche on dépose une goutte d'eau oxygénée et à l'aide d'une pipette Pasteur, on prélève une colonie de germe à étudier et on la dispose dans l'eau oxygénée et on observe immédiatement.

- **Lecture :**

- Un dégagement de bulles de gaz indique la présence d'une catalase.
- Les staphylocoques sont catalase +

- Les streptocoques sont catalase –



**Figure 02:** test de catalase positif

### 7.3.5.2. Identification biochimique des staphylocoques :

L'identification des caractères biochimiques de staphylocoque est réalisée par une mini galerie, composé de:

✚ **Milieu TSI:** ce milieu permet d'étudier trois paramètres biochimiques qui sont : le catabolisme de glucide ( le glucose, le saccharose et le lactose) la production du gaz et la production d'hydrogène sulfuré  $H_2S$  à partir du thiosulfate, en présence de sodium et de Fer ( $Fe^{3+}$ ) dans le milieu (**Leyral & Joffin, 2001**) . L'ensemencement se fait par des stries serrées et piqûre centrale tout en respectant la zone de stérilité du bec bunsen.

- La fermentation des sucres entraîne une acidification du milieu, d'où le virage au jaune de l'indicateur de pH (s'il y a une fermentation du lactose et du saccharose (lactose (+) et saccharose (+)), la pente devient jaune; et s'il y a une fermentation du glucose (glucose +), le culot devient jaune.
- S'il y a une production de gaz, nous observons un décollement de la gélose dans la masse du milieu vers le haut du tube.
- S'il y a une production de  $H_2S$ , nous observons un noircissement du milieu.

✚ **Mannitol mobilité:** Il permet d'étudier la mobilité et de rechercher la fermentation du mannitol. Son ensemencement est réalisé par une piqûre centrale dans la gélose semi-solide avec une pipette pasteur chargé par l'inoculum bactérien.

- La fermentation du mannitol entraîne le virage du milieu au jaune, la bactérie est dite alors Mannitol (+)

- La croissance des bactéries au long de la piqure seulement indique que les bactéries sont immobile.

✚ **Le bouillon nitrate:** est utilisé pour la recherche de l'enzyme nitrate réductase. On dépose 3 à 4 gouttes de la suspension bactérienne dans le bouillon nitrate. La lecture s'effectue par l'addition de quelques gouttes de réactif NR1 et 4 gouttes de NR2.

- La lecture se fait par addition de 3 à 4 gouttes de chacun des réactifs de GRIESS: NR1 et NR2.

- L'apparition d'une coloration rouge indique que la souche est: nitrate réductase(+)  
En cas où le milieu reste jaune, confirmer avec le test de ZOBELL: ajouter un peu de poudre de zinc et agiter le tube, après 5 minutes :

- Si le milieu devient rose donc les nitrates n'ont pas été réduits, et la bactérie est dite : nitrate réductase (-).

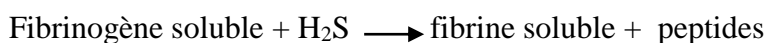
- Si le milieu reste jaune donc la souche a réduit les nitrates jusqu'au stade d'azote gazeux, alors la bactérie est dite: nitrate réductase (+)

✚ **ADH et témoin:** leur ensemencement se fait par addition de 2 à 3 gouttes de la suspension bactérienne et recouvrir avec de l'huile de vaseline pour procurer une anaérobiose. La lecture des résultats s'effectue après incubation à 37°C / 24h.

ADH aboutit à la formation d'un NH<sub>3</sub>, la présence de ces amine entraîne l'alcalinisation du milieu d'où le virage au violet.

### ✚ Recherche de la staphylocoagulase :

D'après (Avril *et al.*, 1992), les staphylocoques pathogènes ont la capacité de produire une enzyme, la staphylocoagulase, qui a la propriété de coaguler le plasma du lapin par la formation d'un complexe avec la prothrombine, ce qui provoque la coagulation selon la réaction suivante:



- **Technique :**

Dans un tube à hémolyse, on mesure:

- 0,5 ml de plasma (humain TP 100 %) en absence de plasma du lapin
- 0,5 ml de la suspension bactérienne
- On agite et on incube à 37°C pendant 2h.



- **Lecture :**

La coagulation doit apparaître en un temps inférieur à 3h. La présence de staphylocoagulase (plasma coagulé) permet d'identifier les *staphylococcus* à coagulase (+)



**Figure 03 :** test de coagulase positif

### 7.3.5.3. Identification biochimique des streptocoques:

Les streptocoques sont des cocci Gram positif en forme de diplocoque ou en chaînette, ils sont catalase négatif.

#### ✚ Recherche des hémolysines :

Selon (Couture & collégial, 1990) cette recherche a pour but la mise en évidence de l'activité hémolytique et la différenciation des bactéries alpha hémolytiques et bêta hémolytiques.

De nombreuses bactéries ont la propriété de lyser les hématies de diverses espèces animales, pour cela, les bactéries peuvent former deux grandes sortes d'hémolysines.

- **Hémolyse alpha:** C'est une hémolyse incomplète des hématies qui se manifeste par l'apparition, autour des colonies, d'une zone mal définie et de décoloration verte du milieu (*Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*).
- **Hémolyse beta:** Elle se manifeste par l'apparition d'une zone claire et transparente autour des colonies, indiquant une hémolyse complète des hématies ; elle est observée habituellement chez les souches de streptocoque des groupes A, B, C, D, E, F, G et L.

➤ **Technique:**

- On ensemence la souche à étudier sur une boîte de gélose au sang de mouton à 5 % par la méthode de stries.

- On la place à l'étuve à 37°C Pendant 24 heures.

➤ **Lecture:**

- Alpha hémolytique: anneau vert foncé, plus anneau vert clair.
- Beta hémolytique: anneau transparent autour des colonies.

### 7.3.5.4 Identification biochimique des cocci Gram négatif :

✚ **Identification de *Neisseria gonorrhoeae* :**

*Neisseria gonorrhoeae* apparaît comme un diplocoque à gram négatif en grain de café. La mise en culture se fait sur gélose au sang cuit en présence d'humidité et de CO<sub>2</sub> à 10 % (**Le Minor & Veron, 1989**) l'identification biochimique peut être effectuée par les tests suivants : catalase +, oxydase +, glucose +, maltose - , saccharose - , fructose - .

### 7.3.5.5. Identification biochimique des bacilles gram négatif :

✚ **Test d'orientation: Test d'oxydase**

La recherche de l'oxydase est le caractère de base de la différenciation entre les entérobactéries et les autres familles de bacilles gram négatif.

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

➤ **Technique :**

A partir d'un milieu solide, une partie de la colonie a été déposée sur un disque oxydase humidifié placé sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé (**Joffin & Leyral, 2006**)

➤ **Lecture:**

- Oxydase positive: Couleur du disque vire au rose foncé à violet
- Oxydase négative: aucun changement n'est observé, (ce sont les entérobactéries).

### 7.3.5.6. Identification biochimique des entérobactéries:

Elle peut être effectuée avec une galerie classique ou une galerie API 20 E

#### **La galerie API 20 E :**

API 20 E est un système permettant l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux

#### ➤ **Principe:**

La galerie API 20E comporte 20 micros tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**Leyral *et al.*, 1998, Denis *et al.*, 2011**)

#### ➤ **Technique :**

Selon (**Leyral *et al.*, 1998**), elle est réalisée comme suit:

#### ✓ **Préparation de la galerie**

- On réunit le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- La galerie est déposée dans la boîte d'incubation.
- **Préparation de l'inoculum**

On prélève à l'aide d'une pipette, une colonie bien isolée sur milieu gélosé et on réalise une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule ou un tube de 5 ml d'eau distillée stérile.

#### • **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes et les cupules des tests: CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne ;
- Remplir uniquement les tubes des autres tests. Créer une anaérobiose dans les tests : LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine. ;

- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37° C pendant 18 à 24 heures (**Denis et al., 2011**)

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs.

➤ **Identification:**

L'identification du germe est obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification. (Voir annexe)

### **7.3.5.7. Identification des levures :**

Selon (**Moulinier, 2003**) , c'est un test de filamentation qui permet la différenciation de *Candida albicans* des autres *Candida*.

- On repère les colonies blanches crémeuses de *Candida*.
- La colonie est émulsionnée dans 0,5 ml de sérum (humain ou de cheval).
- l'incubation se fait à 37°C pendant 3h.
- l'examen à l'état frais montre que *Candida albicans* produisent un tube germinatif (hyphes latéraux courts).

### **8. Antibiogramme :**

L'un des principaux rôles de la pratique bactériologique quotidienne, est de guider le médecin à prescrire un antibiotique adéquat à l'infection traitée. Ce choix est facile grâce au résultat fourni par le test de sensibilité aux antibiotiques selon la technique de diffusion en milieu gélosé (**Delarras, 2007**) , Il existe d'autres méthodes comme la diffusion en milieu liquide (le plus souvent automatisé).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été réalisée par la méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie(**CA-SFM, 2010**) ,et celles du CLSI (**Wayne, 2007**) illustrées dans la manuel de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), version 2011 (**anonyme**)

Les antibiotiques utilisés sont: Penicilline (P), Ampicilline (AMP) Oxacilline (OX), Céfoxitine (FOX), Kanamycine (K), Gentamicine (GM), Tétracycline (TE), érythromycine (E), clindamycine (CL), Vancomycine (VA), Amoxicilline + Acide Clavuniqué (AMC), Rifampicine (RIF), Triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT). Céfazoline (CZO), cefotaxime (CTX), imipénème (IPM), fosfomycine (FOS), cirpfloraxine (CIP), acide nalidixique (NAL), furanes (NIT), doxycycline (DOX), (Bio-rad, France; Oxoid, UK; HiMedia, Inde).

### 8.1. Préparation de l'inoculum:

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF
- L'inoculum peut-être ajusté en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum

### 8.2. Ensemencement :

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de la décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de gélose Mueller Hinton sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux 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 (Wayne, 2007)

### 8.3. Application des disques d'antibiotique :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 18 mm, centre à centre.

- Tester la liste des antibiotiques (voir annexe).
- Presser chaque disque antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (Wayne, 2007)

➤ **Incubation :**

Elle se fait à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture :**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition (ZI) à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller Hinton au sang, on mesure la zone à l'extérieur d'une boîte ouverte bien éclairé et bien distingué entre la zone d'inhibition et celle de l'hémolyse. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (voir l'annexe).

La bactérie est classée dans l'une des catégories: Sensibilité, intermédiaire, ou résistance

### 9. **Analyses Statistiques :**

Le test de Fisher exact a été utilisé pour comparer le taux d'infections chez les différentes catégories de patients malades. Les prévalences des germes trouvés ont été aussi comparées par le test Fisher exact. Les résultats des différences ont été jugés significatives si la probabilité trouvée est inférieure au seuil de 0.05 ( $P < 0.05$ ).

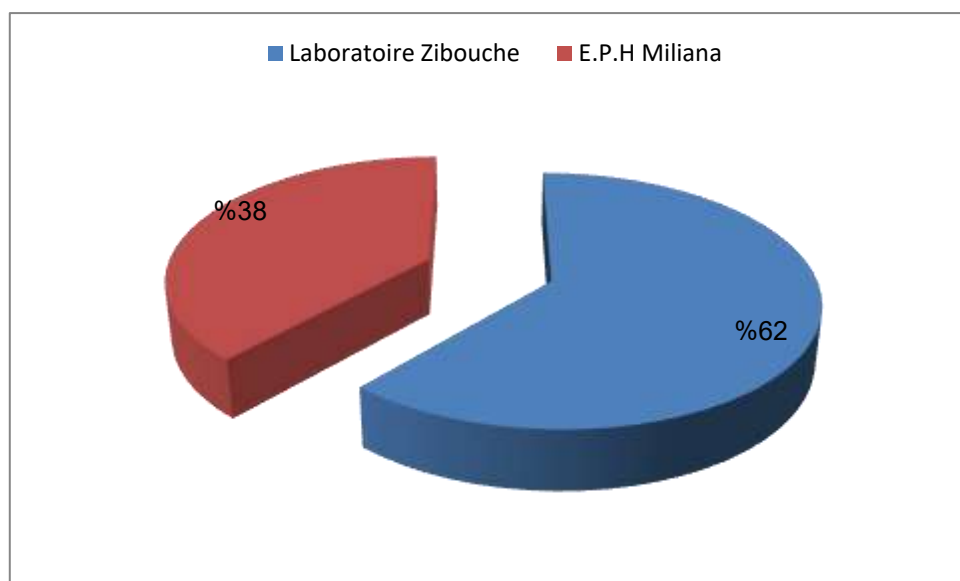
### Résultat et discussion :

#### 1. Répartition des prélèvements selon leur provenance :

Durant les 3 mois de notre stage au niveau de deux laboratoires : le laboratoire de Dr.Zibouche de Ain defla , et au niveau de laboratoire de bactériologie à l'hôpital Fares Yahia de Miliana, nous avons analysé 104 prélèvements génitaux adressés à un examen cyto bactériologique, les leucorrhées provenant des patientes consultants des médecins gynécologues privé et des patientes hospitalisées consultant dans les différents services de l'hôpital (gynécologie, maternité).

**Tableau 04 :** Répartition des prélèvements selon leur provenance

Laboratoire	Nombre de prélèvement	Pourcentage%
Laboratoire Zibouche	64	61.53
E.P.H Miliana	40	38.46
<b>Total</b>	<b>104</b>	<b>100</b>



**Figure 04 :** Répartition des prélèvements selon leur provenance.

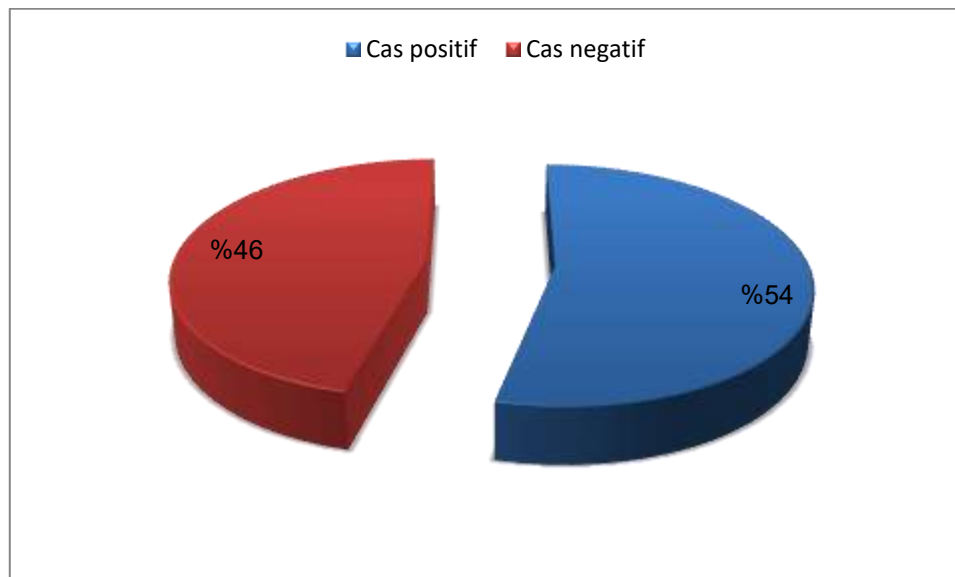
Les résultats présentés dans le tableau 04 et illustrés dans la figure 04 montrent que les laboratoires privés reçoivent plus des échantillons des pertes vaginales que l'hôpital (62% vs 38%). Cela pourrait être justifié par le choix des malades. L'orientation des patients envers les laboratoires privés est motivés par la possibilité de réaliser une large gamme des analyses en une période de temps courte.

### 2. Répartition des cas positifs selon leur provenance :

L'évaluation du pourcentage de la positivité d'analyses des pertes vaginales sont représenté dans le tableau suivant :

**Tableau 05 :** Provenance des prélèvements des pertes vaginales

	Cas positifs		Cas négatifs		Total
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Laboratoire Zibouche	32	50	32	50	64
E.P.H Miliana	16	40	24	60	40
<b>Total</b>	48		56		104



**Figure 05:** Proportion des prélèvements positifs et négatifs

La figure 05 montre que pour les 104 prélèvements analysés, 48 cas sont révélés positifs ce qui donne un taux d'infection de l'ordre de 46%.

Il apparait que la proportion d'infections vaginales trouvée dans notre étude est inférieure à celles rapportés par d'autres travaux comme : 76,4 % pour (**Iavazzo et al., 2008**), 70 % pour (**Líbalová et al., 2007**) et 51 % pour (**Tibaldi et al., 2009**). Les infections vaginales pourraient être expliquées par les habitudes d'hygiène ou par l'antibiothérapie provoquant une diminution des lactobacilles ainsi l'alcalinisation du vagin. (**CHAU & GAMERRE, 1990**)



Les cas négatifs observés dans notre étude pourraient s'expliquer par différents facteurs, des études ultérieures ont rapportés les explications suivantes :

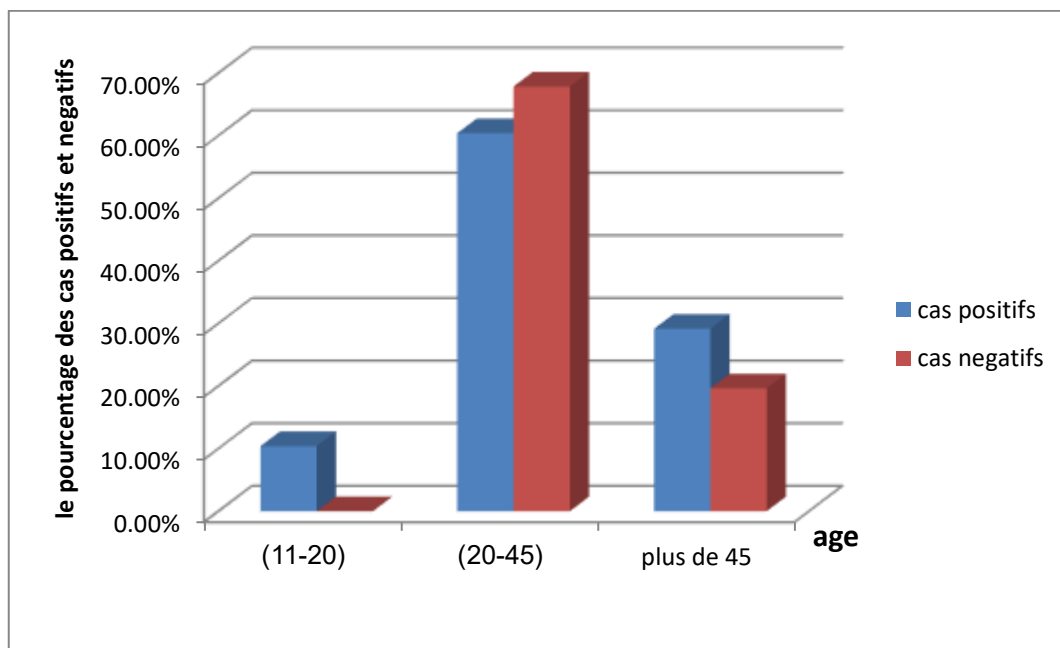
- Le prélèvement n'est pas effectué dans la bonne région comme indiqué ou sans respecter les conditions de prélèvement.
- La présence d'un germe exigeant, nécessite des milieux spéciaux, une atmosphère spéciale telle que les anaérobies.

### 3. Répartition des prélèvements en fonction de l'âge :

Les résultats de répartition des prélèvements en fonction de l'âge sont notés dans le tableau 06:

**Tableau 06** : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge

Age (ans)	Cas positifs		Cas négatifs		Total	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
11-20	5	10,41%	7	12 ,5%	15	14.42
20-45	29	60,41%	38	67,85%	63	60.58
plus 45	14	29,16%	11	19,64%	26	25
Total	48	100%	56	100%	104	100



**Figure 06** : Répartition des prélèvements en fonction de l'âge

La lecture du tableau 06 et de la figure 06 montre que les infections génitales touchent toutes les tranches d'âge à des fréquences variables. Cependant, chez les femmes faisant partie de la tranche d'âge de 20 à 45 ans, leur fréquence peut aller jusqu'à 60,41%.

Au contraire, dans les autres tranches d'âge (11 - 20 et plus de 45 ans), les femmes sont moins affectées par les infections génitales basses avec des taux 10,41%, et 29,16% respectivement.

Les infections génitales enregistrées chez les femmes âgées entre [20 à 45 ans] peuvent être expliquées par une activité sexuelle intensive, des irrigations vaginales fréquentes, ou mauvaise hygiène (**Buswell et al., 2003**)

Chez les jeunes filles [11 - 20 ans], les infections sont de l'ordre de 10,41%. En revue de littérature fait apparaître que plusieurs facteurs favorisant l'infection, à savoir :

- Les modifications hormonales liées au cycle menstruel. En effet, une modification du mucus cervical permettant le passage des microorganismes.
- Particulièrement lorsque le niveau des œstrogènes est élevé et celui de la progestérone relativement bas.
- L'immaturation immunologique facilite l'acquisition et la progression des maladies sexuellement transmissibles (**Flandrois, 1997**)
- Une alimentation déséquilibrée, un excès de fatigue et le stress diminuent la résistance aux agents infectieux.
- Les sous vêtements synthétiques (en nylon) sont des facteurs favorisant les infections vaginales (**Delcroix, 1994**)

Chez les femmes ménopausées (> 45 ans), nous avons noté un taux d'infection de 29,16%. Ces infections génitales peuvent être liées à la réduction de la sécrétion oestrogénique (**Stanley & Beare, 2005**) . Ceci entraîne une élévation du pH vaginal >6 (**Belec, 2007**) et l'installation d'une flore polymorphe comportant une forte proportion d'anaérobies (**Judlin, 2002**) .

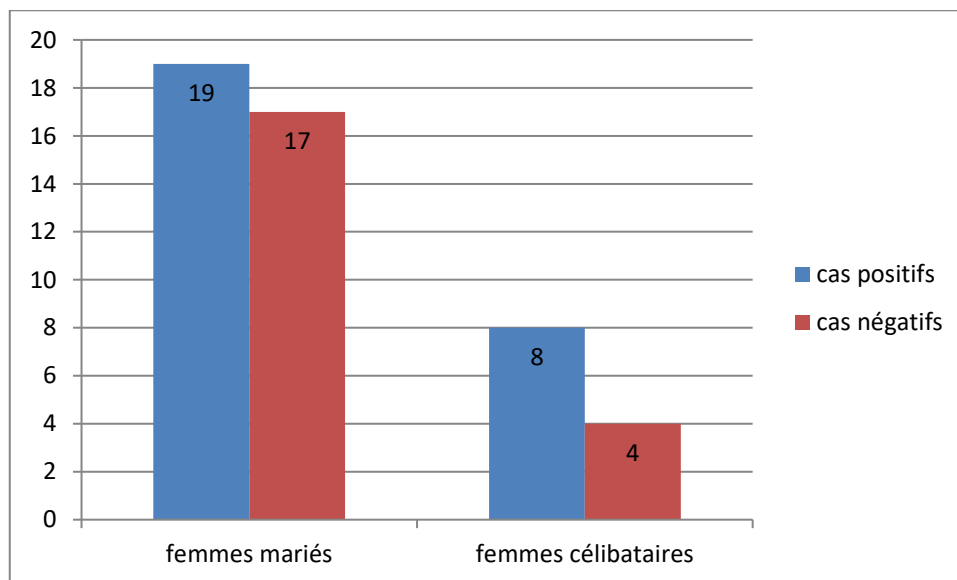
#### **4. Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale:**

Parmi les 104 prélèvements analysés dans cette étude, cette partie des résultats ne concerne que 48 patientes, vu des contraintes de travail on n'a pas pu avoir les détails des restes des prélèvements.

Selon le statut matrimonial, des fréquences différentes ont été notées dans le tableau 07 et illustré dans la figure 07.

**Tableau 07** : Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale

	cas positifs		cas négatifs		Total
	Nombre	pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Femmes mariées	19	70,37	17	80,95	36
Femmes célibataires	8	29,63	4	19,04	12
Total	27	100	21	100	48



**Figure 07** : Répartition des prélèvements selon le statut matrimoniale

Selon le statut familial, des fréquences différentes ont été enregistré, et sont représentés dans le tableau 07 et illustrés dans la figure 07 :

Nous remarquons que les femmes mariées sont les plus atteintes ( $P= 0,099$ ) par les infections avec un taux de 70.37%, alors que les femmes non mariées ne représentent que 29.63%.

D'autres études menées dans des pays en voie de développement ont montré une prévalence élevée similaire à nos études : Egypte 52.8%, Inde (49%) , Afrique de sud (29%), Morocco (54%) (**Sullam et al., 2001**).

Ces résultats peuvent être expliqués par quelques facteurs provoquant le déséquilibre de la flore vaginal décrite par **(Blanc et al., 2004)**.

- Les rapports sexuels non protégés avec le partenaire infecté peuvent déclencher une infection latente telle qu'une parasitose (*Trichomonas vaginalis*).
- Un acte médical iatrogénique (curetage, curage) **(Carbonnelle et al., 1987)**, l'utilisation de certaines pilules fortement dosées en œstrogènes **(Delcroix, 1994)** et l'utilisation des DIU (dispositif intra-utérin) peuvent augmenter le risque des vaginites bactériennes **(Flandrois, 1997)**.

Une étude a montré que de toutes les variables analysées, l'utilisation courante des DIU présentait le risque le plus élevé pour développer une infection génitale **(Sullam et al., 2001)**, un résultat similaire à celui récemment rapporté au Portugal, où la prévalence de toute infection, et en particulier de la vaginose bactérienne, était la plus élevée chez les utilisateurs de dispositifs intra-utérins **(Sullam et al., 2001)**.

Aussi d'autres facteurs ont été rapportés par plusieurs travaux récents. A titre d'exemple, nous citerons :

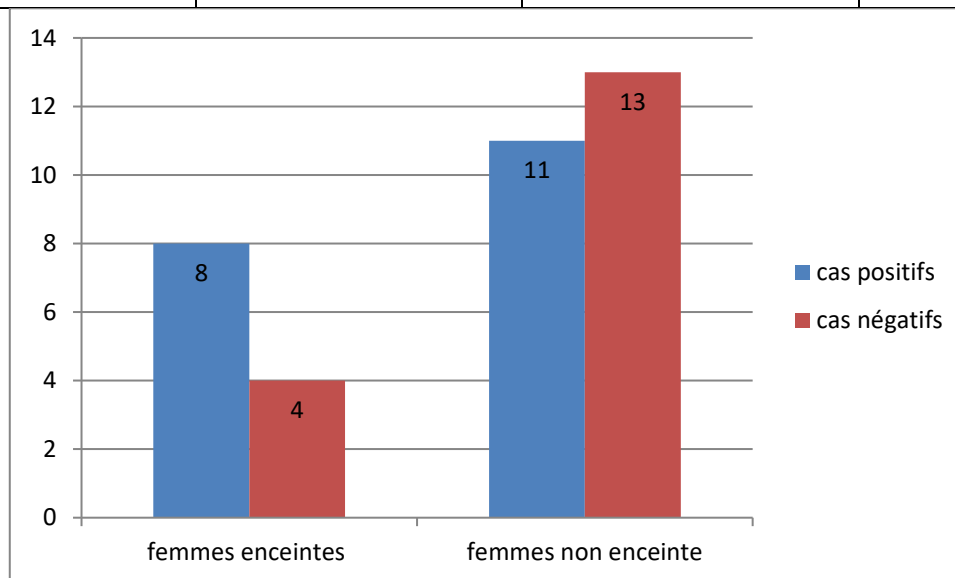
- L'utilisation des contraceptifs locaux (spermicides, préservatif) qui provoquent l'irritation de la muqueuse vaginale et peuvent provoquer aussi une allergie **(Blanc et al., 2004)**.
- Les douches vaginales détruisent la flore de Doderleïn,
- La multiplication des germes de la flore vaginale favorisée par le pouvoir alcalinisant du sperme, plus une irritation au niveau de la muqueuse vaginale.

### **5. Répartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse) :**

Cette répartition concerne uniquement les femmes mariées qui sont au nombre de 36 femmes.

**Tableau 08** : Répartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse)

statut de la femme	cas positifs		cas négatifs		Total
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Femmes enceintes	8	42,11	4	23,52	12
Femmes non enceintes	11	57,89	13	76,47	24
Total	19		17		36



**Figure 08** : Répartition des prélèvements selon le statut de la femme (grossesse)

Dans notre étude, parmi 36 femmes mariées, les femmes enceintes ayant une infection vaginale représentent un taux de 42.11%. En revanche les femmes non enceintes présentent un taux d'infections de 57.89% ( $P=0,01$ ).

Ces résultats sont en désaccord avec ceux trouvés précédemment, (**Tolosa et al., 2006**) ont rapporté une prévalence de 24,4% des infections de l'appareil génital parmi les femmes enceintes (**Tolosa et al., 2006**), cela pourrait être due à l'augmentation des sécrétions, la difficulté à bouger, et, par conséquent, moins d'attention à l'hygiène personnelle pourrait être considérés comme les principales causes d'infections au cours de la deuxième moitié de la grossesse. (**Tchelougou et al., 2013**) ont rapporté un taux de 73,18 % d'infections génitales basses chez les femmes en grossesse.

En raison des modifications hormonales et du pH vaginal, il y a souvent des mycoses localisées au niveau de la vulve et du vagin. Selon (**Vexiau et al., 1991**), chez la femme

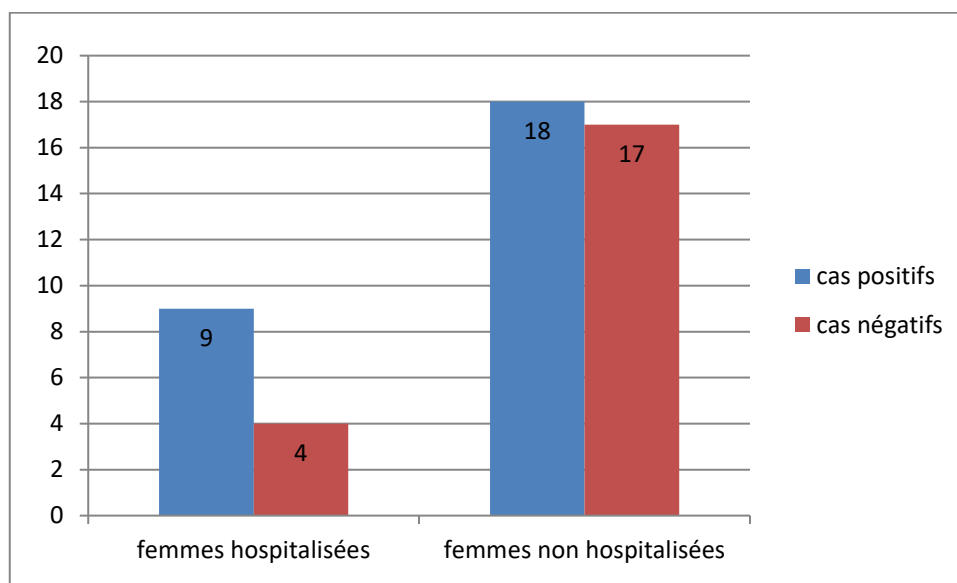
enceinte, les cellules du vagin retiennent plus de glycogène ce qui entraîne l'augmentation de l'acidité du milieu vaginal.

### 6. Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation :

Les résultats de répartition des prélèvements selon l'hospitalisation sont représentés dans le

**Tableau 09:** Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation

	cas positifs		cas négatifs		total
	Nombre	pourcentage	Nombre	pourcentage	
hospitalisé	9	33,33	4	19,05	13
non hospitalisé	18	66,66	17	80,95	35
Total	27		21		48



**Figure 09 :** Répartition des prélèvements selon l'hospitalisation

L'analyse des résultats présentés dans le tableau 09 et la figure 09 révèlent que malgré le nombre réduits des prélèvements issu des patientes hospitalisées (9 vs 18), le taux d'infections est remarquablement élevé chez les femmes hospitalisées. L'hospitalisation est un facteur de risque majeur pour les infections nosocomiales, en fait le milieu au sein de l'hôpital est chargé en différents germes, la transmission est souvent inévitables entre les malades ou par l'intermédiaire des personnel de santé ou les objets et

dispositifs médicaux. Les conditions d'hygiène, l'utilisation du matériel de soins, favorisent les infections génitales et l'émergence des bactéries multi-résistantes.

### 7. Résultat de l'examen cytobactériologique

#### 7.1. Examen cytologique :

##### 7.1.1. Examen macroscopique :

Globalement, les observations macroscopiques concernant l'aspect des leucorrhées sont de type: leucorrhées blanchâtres, épaisses et caillebotées avec une odeur du lait caillé.

De façon moindre, nous avons constaté, chez quelques patientes, la présence de deux aspects différents du premier qui correspondent à des :

- Leucorrhées verdâtres, mousseuses et aérées avec une odeur de plâtre frais; indiquent généralement la présence de *Trichomonas vaginalis*,
- Leucorrhées blanchâtres, épaisses, peu abondantes et grumeleuses indique éventuellement la présence de *Candida albicans* (**Baudet & Seguy, 1990**)
- Leucorrhées grisâtres, homogènes fluide avec une odeur de poisson pourri. Les leucorrhées grisâtres ne sont pas représentatives, ce qui est en contradiction avec les données de la littérature qui associent fréquemment cet aspect à la présence de *Gardnerella vaginalis* (**Bohbot, 2008**); étant donné que sa croissance est fastidieuse et qu'on ne recherche pas toujours cette bactérie de routine au laboratoire, le Gram et l'examen à l'état frais demeurent les seuls moyens dont on dispose pour appuyer le diagnostic .

Donc, nous pouvons dire que l'aspect des leucorrhées associées ne permet pas toujours d'orienter le diagnostic bactériologique.

##### 7.1.2. Examen microscopique :

- **Etat frais :**

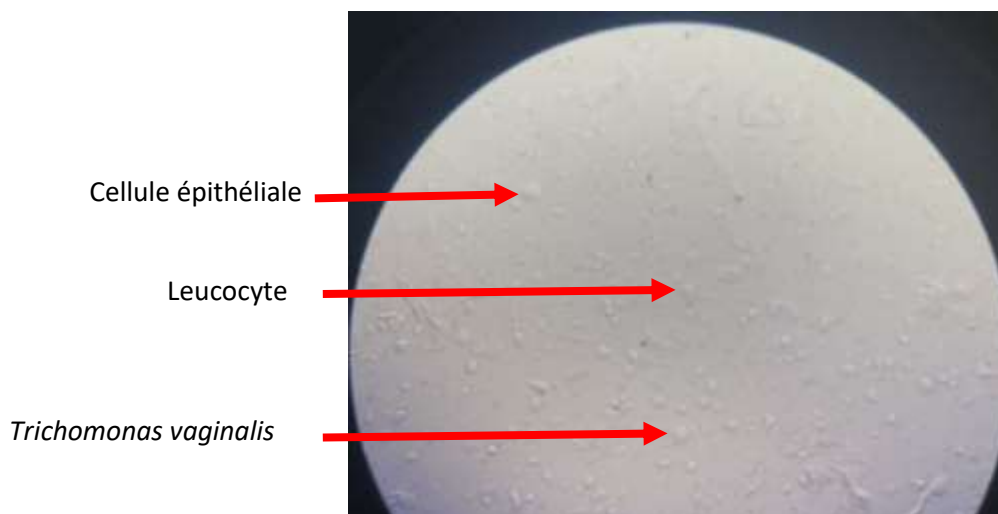
L'examen microscopique à l'état frais des leucorrhées, nous a permis d'observer la présence de certains éléments représentés dans le tableau 15.

**Tableau 10:** Les éléments trouvés dans les leucorrhées à l'état frais

Éléments Présence	Cellules épithéliales	Polynucléaires	Hématies	Levures	Parasites
Présence rare	30	44	32	3	0
Présence abondant	74	53	8	18	2
Absence	0	7	64	83	102

Selon le tableau 10, on remarque que les cellules épithéliales et les polynucléaires se présentent en forte abondance. Par contre les hématies, les parasites et les levures, leur présence n'est constatée que pour un nombre restreint de prélèvements.

L'importance de l'examen à l'état frais se voit dans la détection de *Trichomonas vaginalis* par sa mobilité caractéristique. La présence abondante des polynucléaires est le signe d'une réaction inflammatoire local (**Bergogne-Bérézin, 2007**).



**Figure 10 :** Résultat d'examen microscopique des pertes vaginales à l'état frais

## 7.2. Examen bactériologique

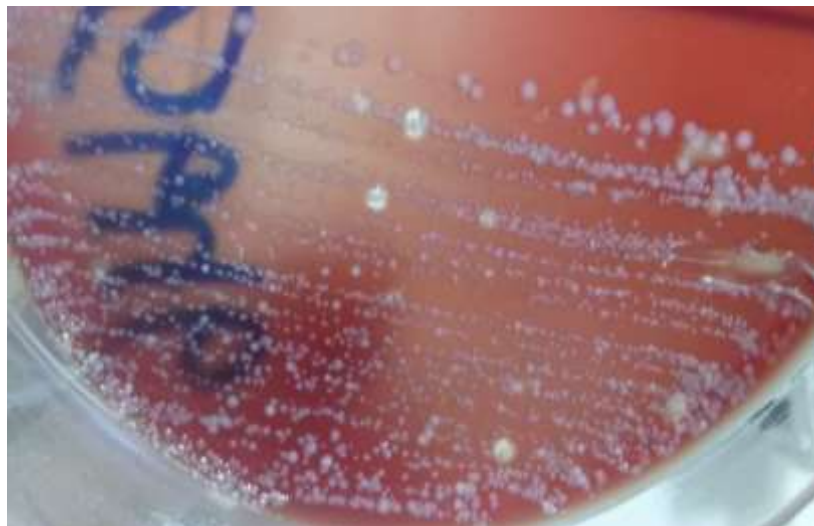
### 7.2.1. Aspect macroscopique :

L'identification macroscopique repose essentiellement sur l'aspect morphologique des colonies obtenues sur les différents milieux de culture. Sur 22 prélèvements positifs, nous avons isolé 22 souches répartis d'une manière présumptive en 5 types de colonie.



**Tableau 11** : Aspect des colonies obtenues sur différents milieux de culture

Caractéristiques des colonies	Milieu de culture	Germes	Nombre de cas
Arrondie, petite, translucide, grisâtre ou bleutée	Gélose au sang	Streptocoques	16
Arrondie, opaque, bombée et lisse et blanche	Chapman	Staphylocoque	2
Ronde, plate avec un centre bombé et bord régulier	Hecktoen	<i>Escherichia coli</i>	2
Colonie envahissante qui donne un aspect en nappe	Hecktoen	<i>Proteus mirabilis</i>	1
Bombée et muqueuse	Hecktoen	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1



**Figure 11** : *Staphylococcus sp* sur gélose au sang frais



**Figure 12 : Streptococcus sp sur gélose au sang frais**

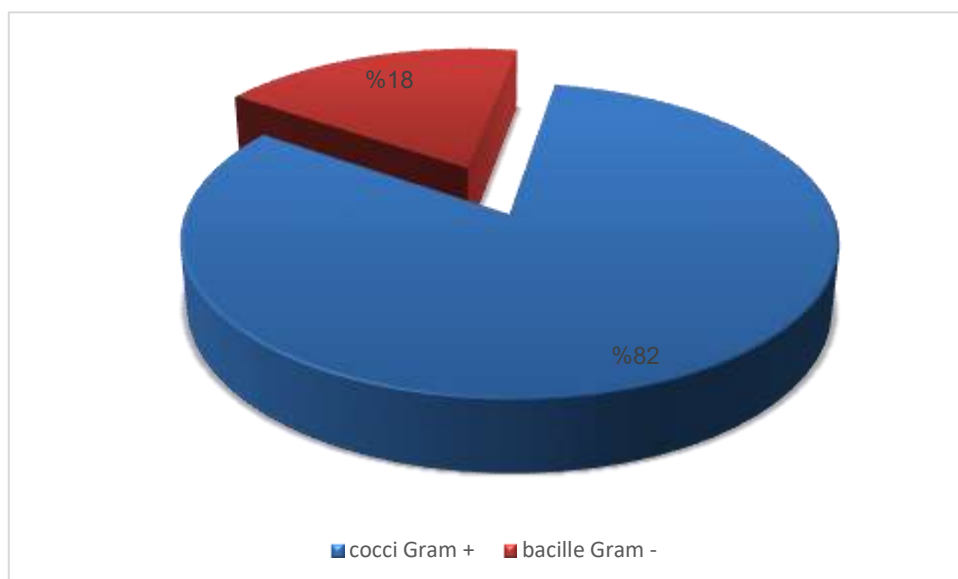
### 7.2.2. Identification microscopique

#### ❖ Coloration de Gram :

Les résultats de la coloration de Gram sont représentés dans le tableau 13

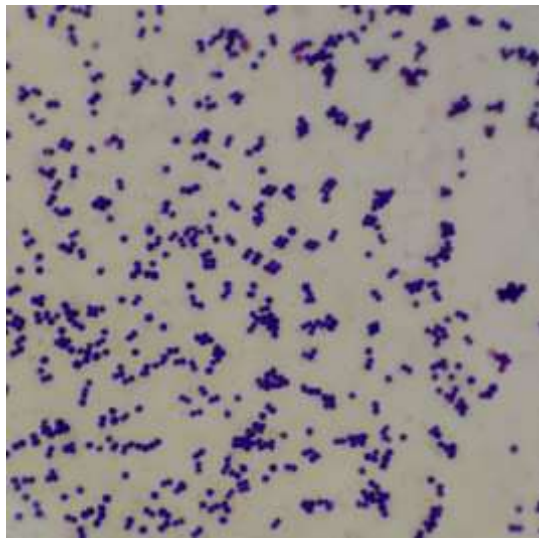
**Tableau 12 : Répartition des souches bactériennes isolées selon la coloration de Gram**

Groupe bactérien	Nombre de cas	Pourcentage
Cocci Gram +	18	81,82
Bacille Gram -	4	18,18
Totale	22	100



**Figure 13 : Répartition des souches bactériennes isolées selon la coloration de Gram**

Les résultats obtenus après la coloration de Gram révèlent que parmi les 22 cultures positives 82% sont des cocci à Gram positifs, et 18% sont des bacilles à Gram négatifs.



**Figure 14 :** observation microscopique des coques après coloration de Gram Gx100

### 7.2.3. Identification biochimique

#### 7.2.3.1. Identification des cocci à Gram positif :

Après la réalisation des tests d'identification biochimique concernant les 18 cultures des cocci à Gram positifs nous avons obtenus 16 cas ayant une catalase négative soit un taux de 88,89% qui sont des *Streptococcus sp* et 2 cas ayant une catalase positive dont le test de coagulase a révélé négatifs, soit un taux de 11,11% de *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN).

#### 7.2.3.2. Identification des bacilles à Gram négatif :

Les résultats des tests d'identification biochimiques effectués pour les 4 cultures des bacilles Gram négatifs, étaient positifs pour le test d'oxydase qui ont identifié ensuite par la galerie API 20 E. Les résultats des galeries API 20 E effectués sont illustrés dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** Résultats de l'identification biochimique des bacilles à Gram négatif

Test	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	Germe
Résultats	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>E. coli</i>
	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>E.coli</i>
	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>P.mirabilis</i>
	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>K.pneumoniae</i>



**Figure 15 :** l'identification biochimique d'Escherichia coli par la Galerie API 20 E

### 7.2.3.3. Identification des levures :

Les testes de blastes réalisés sur les 24 cultures positives sur milieu Sabouraud ont permis d'identifier 14 souches de l'espèce *Candida albicans* avec une fréquence de 58.33% et 10 souches de *Candida sp* (41.67%).



**Figure 16 :** candida albicans sur milieu *Sabouraud*



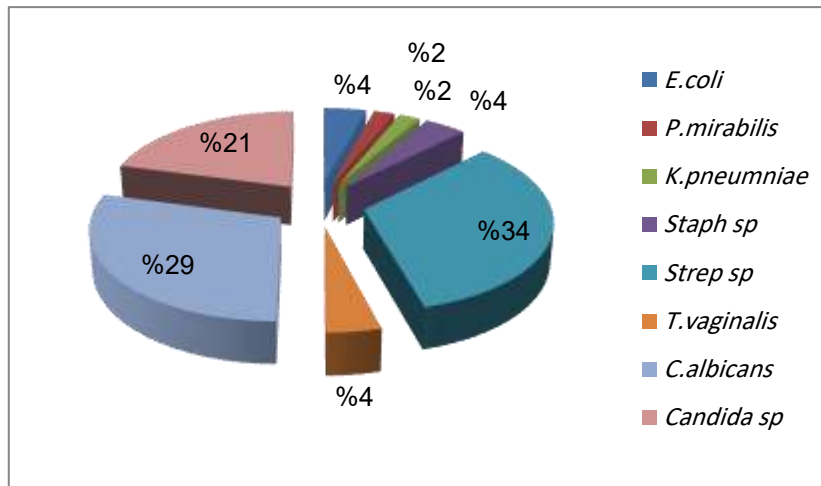
**Figure 17 : Observation microscopique des levures Gx 40**

**7.3. La fréquence des agents infectieux identifiés :**

La fréquence des agents infectieux identifiés sont représentés dans le tableau 15 et illustrés dans la figure 18

**Tableau 14 : Répartition de souches isolées selon leur nature**

Groupe	Germes isolés	Nombre de cas	Pourcentage	Total %
Cocci gram positif	Streptocoque sp	16	33,33	37.49
	Staphylocoque blanc	2	4,16	
Bacille gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	2	4,16	8.32
	<i>Proteus mirabilis</i>	1	2,08	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2,08	
Levures	<i>Candida Sp</i>	10	20,83	50
	<i>Candida albicans</i>	14	29,17	
Parasite	<i>Trichomonas vaginalis</i>	2	4,16	4.16



**Figure 18 : Répartition de souches isolées selon leur nature**

Les résultats présentés dans le tableau 14 et la figure 18 résument la distribution des germes isolés et identifiés dans les cas positifs. Nous observons la prédominance des germes responsables des infections typiques comme les *Candida* et les streptocoques. Les germes banaux ne se retrouvent qu'avec un taux très réduit. Cependant, *T.vaginalis* n'a été détectée qu'avec un faible pourcentage (deux cas).

Les résultats cytotabériologiques et biochimiques ont mis en évidence la présence de 8 agents infectieux répartis en quatre groupes : les cocci Gram positifs, les bacilles Gram négatifs, les levures et les parasites.

D'après les résultats obtenus nous constatons que l'infection provoquée par les levures (mycoses) est la plus fréquente avec un taux de 50% (répartis entre *Candida albicans* 29,17% et *Candida Sp* 20,83%). Suivi par le groupe des cocci Gram positifs avec un taux de 37,49% assignées en deux genres qui sont les *Streptococcus sp* et les *Staphylococcus sp* avec des taux de 33,33% et 4,16% respectivement. Le groupe des entérobactéries venaient en 3<sup>ème</sup> place soit un taux de 8,32% dont *E. coli* présentaient un taux de 4,16% de l'ensemble des cas positifs, et 2,08% pour *P. mirabilis* et *K.pneumoniae*. Les parasites (*Trichomonas vaginalis*) ont été observés seulement chez 4,16% des cas positif.

La comparaison de ces résultats avec d'autres études antérieures, on constate que nos résultats sont similaires à ceux de (Bohbot *et al.*, 2012) qui présentaient les candidoses comme l'étiologie infectieuse la plus fréquente avec un taux de 46,7 %, et 21,9 % présentaient une vaginite bactérienne, et 1,8 % avaient une infection à *Trichomonas*

*vaginalis* (Bohbot et al., 2012). Ces chiffres correspondent aussi à la prévalence rapportée par Iavazzo (42,5%) (Iavazzo et al., 2008) et Cetin 42,2% (Bohbot et al., 2012)

Dans le cas des candidoses, les résultats d'une étude menée par (Nyirjesy et al., 2005), rapportent que l'espèce *Candida albicans* était plus dominante que les autres espèces des *Candida* avec un taux de 72% .

Selon (Bohbot et al., 2012), la fréquence des streptocoques dans les vaginites bactériennes était plus élevée que celle des staphylocoques et des entérobactéries qui est le cas de cette présente étude.

Pour l'infection par *T.vaginalis*, des résultats d'une étude proche de nos résultats signale une fréquence de 3.1 % (Sutton et al., 2007)

Plusieurs études récentes ont révélé que le passage à la pathogénicité des levures dépend de nombreux facteurs, à savoir:

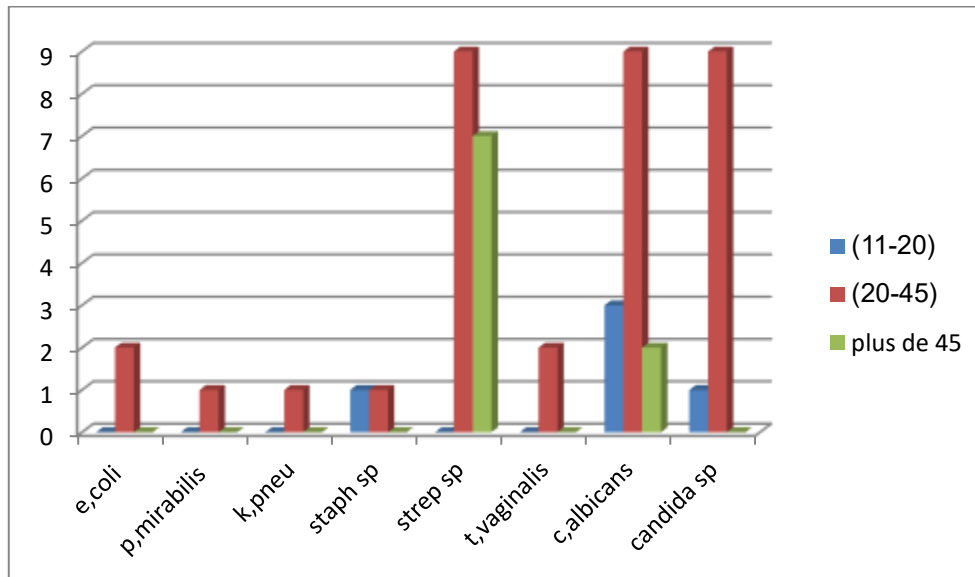
- Le diabète non contrôlé :un taux de sucre élevé dans le vagin constitue un milieu de culture idéal pour les *Candida* (Judlin, 2002)
- La grossesse : pendant la grossesse il existe une hyperplasie de l'épithélium vaginal et une libération importante de glycogène qui favorise la pullulation du bacille de Döderlein et de ce fait abaisse le PH vaginal à 3,6. Cette acidité favorise le développement des levures (Ahmad & Khan, 2009)
- Les contraceptifs hormonaux, le stress, l'utilisation précédente des antifongiques, les pratiques alimentaires, la colonisation gastro-intestinale par l'organisme, les vêtements et affaiblissent le système immunodéprimé (Jombo et al., 2010)
- Les causes spécifiques et les facteurs de risque associés à la vaginite bactérienne sont mal compris; Cependant, des associations avec l'activité sexuelle, l'utilisation de produits d'hygiène qui altèrent l'écosystème vaginal et la prédisposition génétique ont été décrites (Vaca et al., 2010)
- La cigarette peut être aussi considérée comme un facteur de risque pour les vaginites et les vaginoses bactériennes. Ce risque était directement proportionnel au nombre de cigarettes fumées. Le tabagisme a été associé à la vaginose bactérienne dans des études antérieures (Schwebke et al., 1999) Les mécanismes pathogènes possibles liant le tabagisme et la vaginose bactérienne nécessitent une exploration plus approfondie. Une explication possible est que la fumée de cigarette contient

divers constituants chimiques comme la nicotine, la cotinine et l'époxyde de benzo pyrène diol (BPDE). Ces produits chimiques ont été démontrés dans la glaire cervicale des fumeurs et peuvent modifier directement la microflore vaginale (Schwebke et al., 1999).

### 8. Répartition de souches isolées selon l'âge :

**Tableau 15 : Répartition de souches isolées selon l'âge**

	<i>E.coli</i>	<i>P.mirabilis</i>	<i>K.pneumniae</i>	<i>Staph sp</i>	<i>Strep sp</i>	<i>T,vaginalis</i>	<i>C,albicans</i>	<i>Candida sp</i>
(11-20)	0	0	0	1	0	0	3	1
(20-45)	2	1	1	1	9	2	9	9
plus de 45	0	0	0	0	7	0	2	0



**Figure 19 : Répartition des souches isolées selon l'âge**

La répartition des souches isolées selon l'âge montre que toutes les souches sont impliquées dans les infections génitales quel que soit la catégorie d'âge. Chez la tranche d'âge (20-45), les cas d'infections élevées sont causés majoritairement par les *Streptococcus sp*, *Candida albicans* et *Candida sp*, *Trichomonas vaginalis*, les autres germes présentés en faible fréquence. Pour les femmes plus que 45 ans, c'est les streptocoques qui étaient présents avec un nombre relativement élevé par rapport aux autres germes.



(**Parazzini et al., 2000**) ont rapporté qu'il n'y avait pas d'association claire entre l'âge et la fréquence de l'infection à *Candida*. D'un autre côté, (**Ako-Nai et al., 1993**) ont rapporté que la fréquence la plus élevée de *Candida* a été trouvée dans le groupe d'âge 20-25 ans .

(**Okungbowa et al., 2003**) ont rapporté que le groupe d'âge 26-30 ans avait la fréquence la plus élevée de *Candida*, suivi par le groupe d'âge 21-25 ans, et 41 ans et plus y avait la fréquence la plus basse chez les femmes présentant une infection vulvo-vaginale symptomatique. (**Cetin et al., 2007**) trouvaient dans leur étude que le groupe d'âge 26-30 ans avait la fréquence la plus élevée de *Candida* ; Suivi par les groupes d'âge 36-40 et 21-25 ans. Le groupe d'âge (56 ans et plus) avait la fréquence la plus faible de *Candida*. Ces études sont essentiellement très proches des résultats de notre travail. Les résultats de notre étude indiquent que les facteurs associés à l'âge (modification hormonal par exemple) et aux différentes méthodes contraceptives utilisées peuvent influencer l'occurrence et la distribution de *Candida* sp.

Au Brésil, la prévalence de *T. vaginalis* était de 3,2% chez les femmes âgées de 18 à 40 ans suivies dans un service de soins de santé primaires (**Nyirjesy et al., 1995**).

Dans d'autres études, des résultats opposés a nos constatations, (**Krashin et al., 2010**) et (**Crosby et al., 2002**) aux Etats-Unis sur des adolescents (12-19 ans), ont rapporté des taux plus élevés, respectivement de 12,9% et 14,4%. Les deux études ont utilisé des méthodes de culture pour détecter *T. vaginalis* et ont été réalisées chez des adolescents défavorisés sur le plan socioéconomique, principalement des patients non blancs, qui ont participé à des consultations externes publiques. Cependant, les individus inclus dans ces études ont rapporté une fréquence élevée de rapports sexuels avec des partenaires plus âgés, des antécédents significatifs de délinquance et de consommation de drogues illégales (**Crosby et al., 2002**) et une infection concomitante à *Neisseria gonorrhoeae* (**Syed & Braverman, 2004**), des caractéristiques qui diffèrent ces adolescents de notre population.

9. Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial :

Tableau 16 : Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial

Souche	Femme mariée	Femme célibataire
<i>E. coli</i>	2	0
<i>P. mirabilis</i>	1	0
<i>k. pneumoniae</i>	0	1
<i>T. vaginalis</i>	2	0
<i>Strep sp</i>	8	2
<i>Staph sp</i>	0	2
<i>C. albicans</i>	5	0
<i>Candida sp</i>	2	2

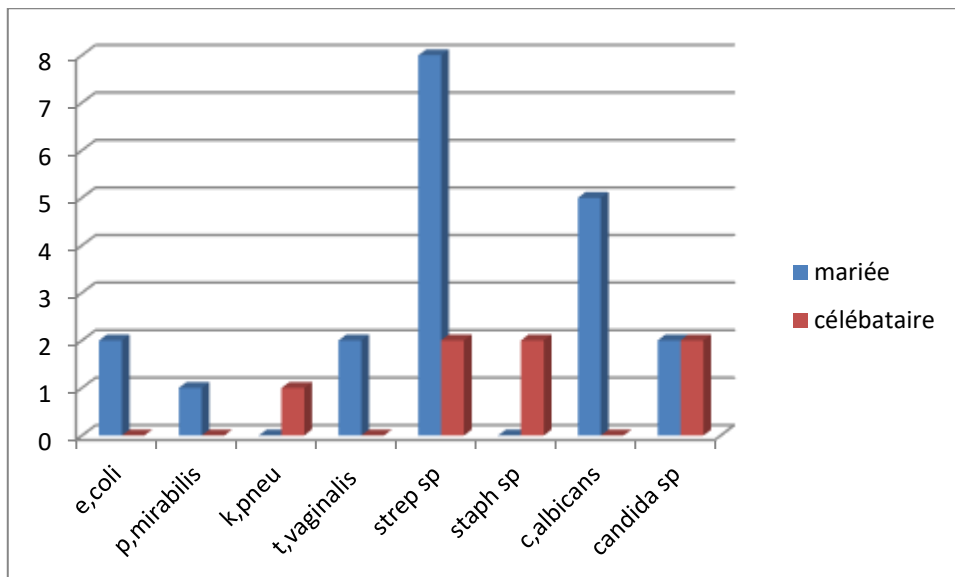


Figure 20 : Répartition des souches isolées selon le statut matrimonial

Le tableau 16 représente la répartition des souches isolées selon le statut matrimonial. Au total, 27 patientes avaient été incluses dans cette partie d'étude. Les résultats ont montré que *E. coli* (2 cas), *P. mirabilis* (1 cas), *T.vaginalis* (2 cas), *C.albicans* (5 cas) étaient rencontrés seulement chez les patients mariés.

D'autre part, *Streptococcus sp* était plus fréquent chez les femmes mariés avec 80% comparé à 20% des cas seulement chez les femmes célibataires. Pour *Candida sp*, les cas retrouvés étaient également répartis entre les patients célibataires et les patientes mariées (2 célibataires, 2 mariés).

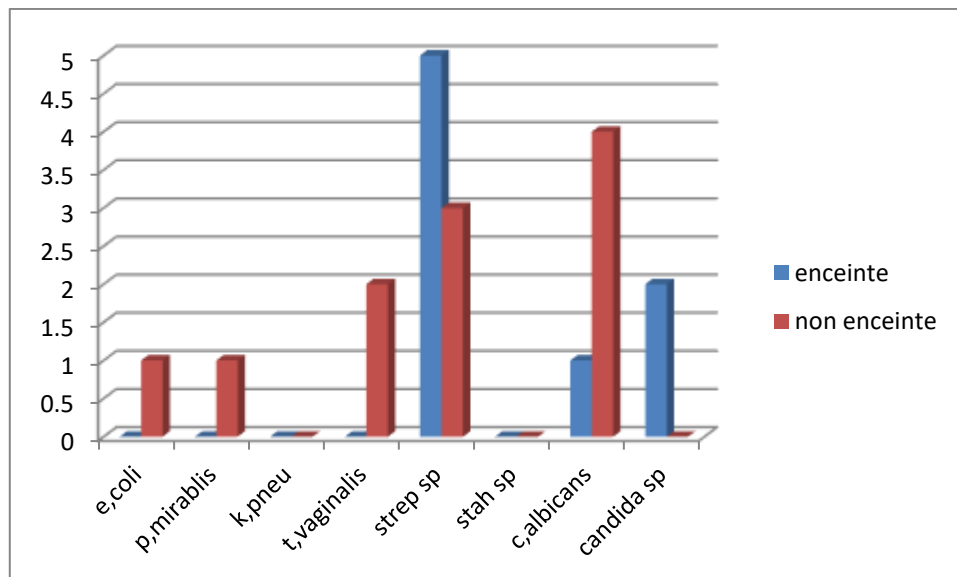
*K. pneumoniae* (1 cas) et *Staphylococcus sp* (2 cas) étaient rencontrés seulement chez les femmes célibataires.

Les résultats révèlent que le taux d'infection variait avec le statut matrimonial concordants avec ceux de (Ngaba *et al.*, 2014) qui rapportaient que n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les femmes mariées et les femmes célibataires .

### 10. Répartition des souches isolées selon le statut de la femme :

**Tableau 17: Répartition des souches isolées selon le statut de la femme**

Germe	Enceinte	Non enceinte
<i>E.coli</i>	0	1
<i>P.mirabilis</i>	0	1
<i>K.pneumoniae</i>	0	0
<i>T.vaginalis</i>	0	2
<i>Strep sp</i>	5	3
<i>Stah sp</i>	0	0
<i>C.albicans</i>	1	4
<i>Candida sp</i>	2	0



**Figure 21 : Répartition des souches isolées selon le statut de la femme**

Le tableau 17 présente la répartition des souches selon l'état gestationnelle des femmes. *E. coli*, *P. mirabilis*, *T.vaginalis* étaient seulement rencontrés chez les femmes non-enceintes. *Candida sp* était seulement détecté chez les femmes enceintes. *C.albicans*

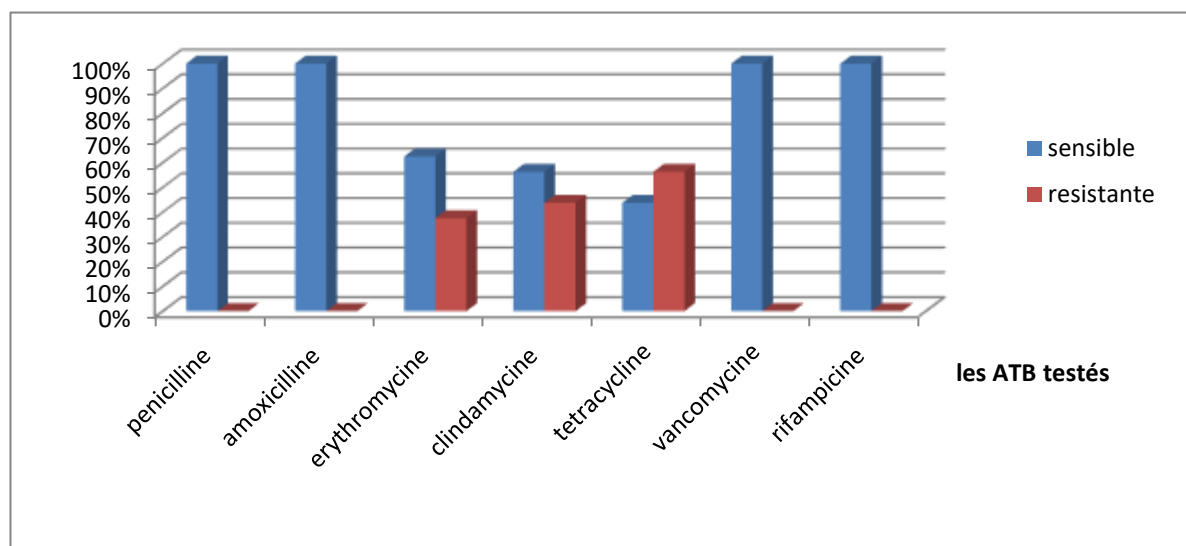
est plus fréquemment trouvée chez les femmes non-enceintes (4) par rapport les femmes enceintes (1). En revanche, *Streptococcus sp* est majoritairement présente chez les femmes enceintes (5) par rapport les femmes non-enceintes (3). Globalement, les germes étaient plus rencontrés chez les femmes non-enceintes que les femmes enceintes (11 cas vs 8 cas).

La nature des germes isolées dans les sécrétions vaginales est certainement influencés par les conditions d'hygiène, l'écosystème vaginal. Le statut hormonal de la femme pourra aussi jouer un rôle dans la sélection des germes retrouvé dans le vagin. Dans notre étude, les résultats de la répartition des souches selon l'état gestationnelle s'accordent avec ceux obtenus par (Ngaba et al., 2014)

### 11. Résultats de l'antibiogramme :

**Tableau 18 : Répartition des taux de l'antibioresistance chez les streptocoques sp :**

	Sensibilité	résistance
<b>Pénicilline</b>	100%	0%
<b>Amoxicilline</b>	100%	0%
<b>Erythromycine</b>	62,50%	37,50%
<b>Clindamycine</b>	56,25%	43,75%
<b>Tétracycline</b>	43,75%	56,25%
<b>Vancomycine</b>	100%	0%
<b>Rifampicine</b>	100%	0%



**Figure 22 : Taux de l'antibioresistance chez les streptocoques sp**

## Résultats et discussions

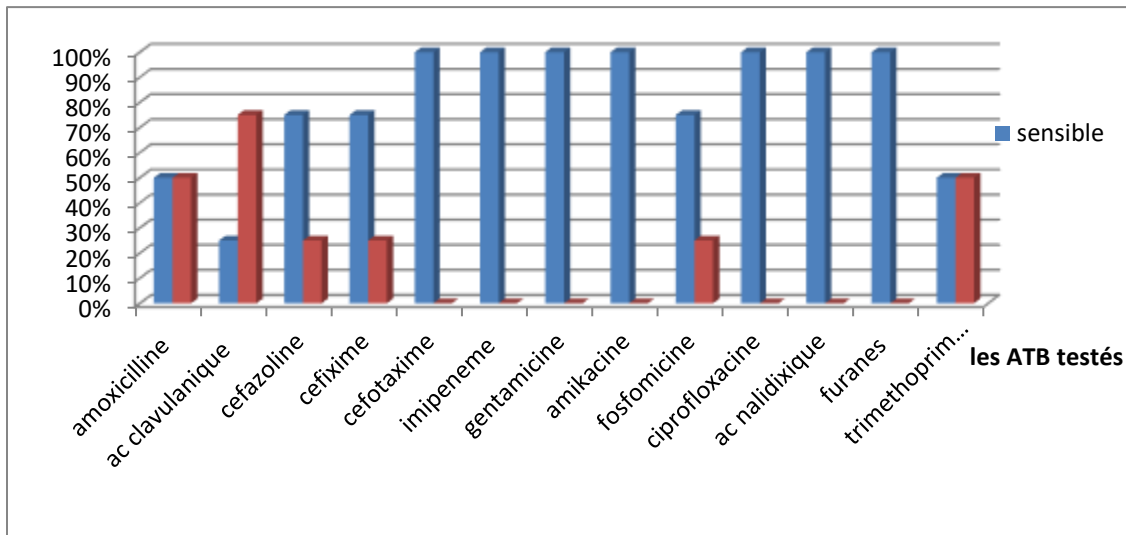
Les 16 souches identifiées comme étant de *Streptococcus sp* présentent une sensibilité totale vis-à-vis à la pénicilline, l'Amoxicilline, Vancomycine, rifamycine, et une sensibilité moyenne pour l'érythromycine et clindamycine qui sont respectivement 62,5% et 56,25%.

Concernant la tétracycline, nous avons enregistrées un taux de résistance de 56,25 %, ce qui confirme les résultats obtenues à Dakar (**Burnichon & Texier, 2003**)

Il en dérive que d'après nos résultats :les beta-lactamines et l'érythromycine restent les antibiotiques les plus actifs sur les streptocoques , ces résultats sont comparable avec ceux de (**Yala et al., 2001**)

**Tableau 19 : Taux de l'antibiorésistance chez les entérobactéries :**

	<b>sensibilité</b>	<b>Résistance</b>
<b>Amoxicilline</b>	50%	50%
<b>Amoxicilline +Ac clavulanique</b>	25%	75%
<b>Céfazoline</b>	75%	25%
<b>Céfixime</b>	75%	25%
<b>Céfotaxime</b>	100%	0%
<b>Imipenème</b>	100%	0%
<b>Gentamicine</b>	100%	0%
<b>Amikacine</b>	100%	0%
<b>Fosfomicine</b>	75%	25%
<b>Ciprofloxacine</b>	100%	0%
<b>Ac nalidixique</b>	100%	0%
<b>Furanes</b>	100%	0%
<b>Triméthoprime sulfaméthoxazole</b>	50%	50%



**Figure 23 :** Taux de l'antibioresistance chez les entérobactéries

D'après la figure 23 les souches des entérobactéries isolées présentent une sensibilité totale vis-à-vis de cefotaxime, imipenème, gentamicine, amikacine, ciprofloxacine, Ac nalidixique et les furanes suivies par céfazoline, céfixime et fosfomicine avec un taux de sensibilité de 75%.

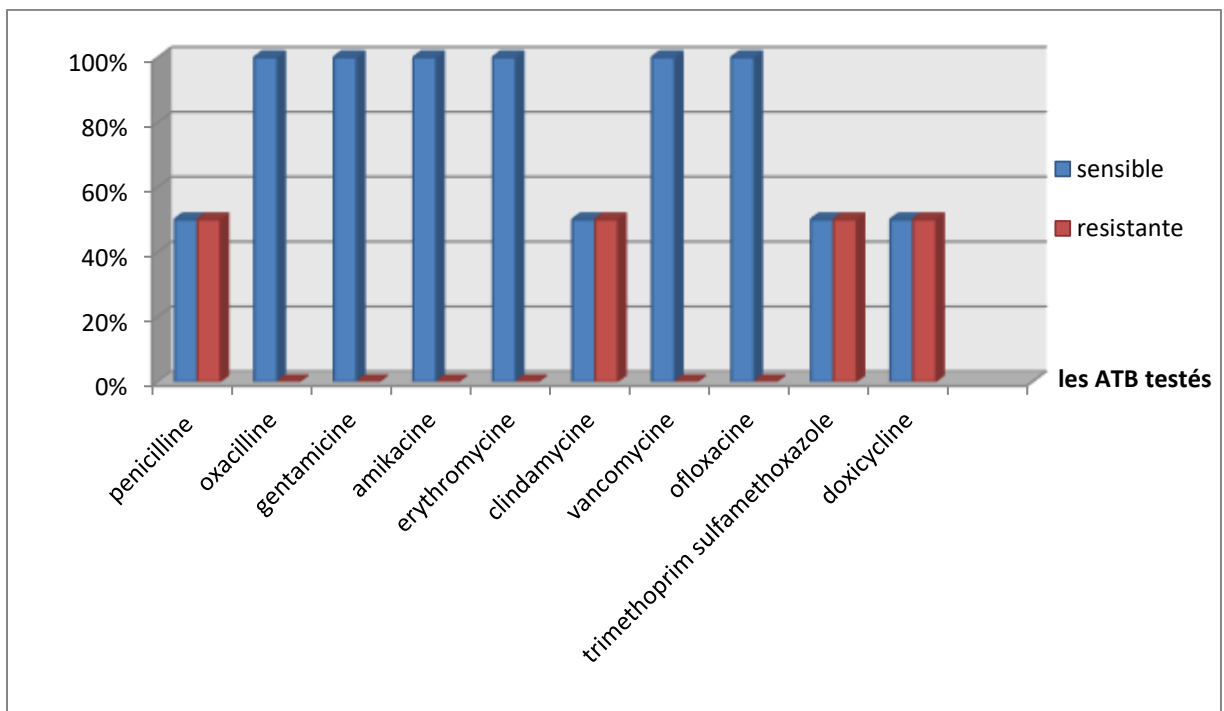
On revanche, nous avons enregistrées un taux de résistance élevé de l'Amoxicilline +Ac clavulanique de 75% suivies par une résistance de 50% vis-à-vis l'Amoxicilline et triméthoprim sulfaméthoxazole.

D'après (**Fauchère & Avril, 2002**) ont montrés que la résistance des entérobactéries est due à la production des lactamases. La gentamicine, l'amikacine et imipenème restent les antibiotiques les plus efficaces contre ce groupe. D'après (**Yala et al., 2001**), le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles à gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries.

Des auteurs comme (**Bryskier, 1999**) ont rapporté, dans une étude multicentrique en Pologne que 90% des souches d'*E. Coli* sont sensibles à la gentamicine.

**Tableau 20 : Taux de l'antibiorésistance chez les *Staphylococcus sp***

Antibiotique	Sensibilité	Resistance
<b>Penicilline</b>	50%	50%
<b>Oxacilline</b>	100%	0%
<b>Gentamicine</b>	100%	0%
<b>Amikacine</b>	100%	0%
<b>Erythromycine</b>	100%	0%
<b>Clindamycine</b>	50%	50%
<b>Vancomycine</b>	100%	0%
<b>Ofloxacine</b>	100%	0%
<b>Triméthoprim sulfaméthoxazole</b>	50%	50%
<b>Doxicycline</b>	50%	50%



**Figure 24 : Taux de l'antibioresistance chez les *Staphylococcus sp***

Les deux souches identifiées comme étant des *Staphylococcus sp* présentent une sensibilité totale vis-à-vis à la oxacilline, la gentamicine, l'amikacine, l'érythromycine, la vancomycine, ofloxacine.

En ce qui concerne la pénicilline, la clindamycine, triméthoprim, sulfaméthoxazole, et doxycycline présentent une résistance moyenne de 50%. Selon (Bouvenot & Caulin, 2011) les *Staphylocoques sp* résistant à la pénicilline .

### 12. Profils de l'antibioresistance :

**Tableau 21:** Profil de résistance chez les *Streptococcus sp*

Profil	Souches
<b>E</b>	4
<b>CL</b>	6
<b>TE</b>	10
<b>E.CL</b>	2
<b>CL-TE</b>	2

A l'essor de notre investigation, nous avons recensé plusieurs profils de résistance aux divers antibiotiques pour l'ensemble des souches, et qui sont présentés dans le tableau 21. Pour les *Streptococcus sp* 5 profils différents ont été observés. Le profil [TE] regroupe le nombre le plus élevé des souches (10 souches).

L'analyse de l'ensemble des souches a révélé la prédominance des profils regroupant une résistance à un seul antibiotique (3 profils). Selon nos résultats la multi-résistance (résistance simultanée à trois antibiotiques ou plus) n'ont été détectée chez la totalité des souches. Par ailleurs, 4 (2 profils) souches ont présenté de résistance à plus de deux familles différentes des antibiotiques.

**Tableau 22 :** Profil de résistance chez les entérobactéries

Profil	souches
<b>P</b>	1
<b>P-DOX</b>	1
<b>DOX</b>	1

D'après le tableau 22, nous constatons que les souches des entérobactéries sont réparties en trois profils selon leur résistance aux différents antibiotiques. Chaque profil contient une seule souche. Une résistance simultanée à la pénicilline et la doxycycline a été observé chez deux souches.



**Tableau 23** : Profil de résistance chez les *Staphylococcus sp*

<b>Profil</b>	souches
<b>P-DOX</b>	1
<b>CL-SXT</b>	1

Nous avons noté que les deux souches ont présenté des résistances regroupées en deux profils différents (tableau 23). Parmi ces résultats, il est d'importance de signaler qu'aucune souche n'a été résistante à l'oxacilline. L'analyse de la multi-résistance des souches de *Staphylococcus sp* a montré que les souches isolées sont résistantes à seulement deux familles différentes des antibiotiques.

### Conclusion

Les sécrétions vaginales peuvent être le signal d'une anomalie de la sphère génitale féminine, En cas d'infection, les caractéristiques des leucorrhées sont des éléments d'orientation important.

Les consultations bibliographiques ont montré que les infections génitales sont parmi les infections les plus fréquentes, rencontrées surtout chez la femme en âge de reproduction et à moindre effet chez les femmes ménopausées et les filles de bas âge. Leur gravité réside dans la variabilité des agents étiologiques associés de façon pathogène ou saprophyte, provoquant ainsi des difficultés dans leurs traitements.

En définitive, même s'ils ne sont pas toujours représentatifs de la population générale les différents échantillons ayant fait l'objet de notre étude, ont permis d'aboutir à certains résultats :

- Les femmes mariées sont les plus touchées par les infections génitales, avec une fréquence de 70,37 %.
- Les examens cyto bactériologiques ont permis d'identifier un nombre considérable de microorganismes appartenant en grande partie aux bactéries et aux levures, et d'un parasite, a l'essor de nos résultats il impératif de noter que:
  - Les *Candida* viennent en tête des étiologies des infections génitales féminines avec un taux de 50% dont *C. albicans* représentait 29.17% et *Candida sp* avait un taux de 20.83%
  - Quant aux streptocoques, représentait l'étiologie la plus fréquente après les *Candida* avec un taux de 33.33%.
  - Parmi les autres agents qui étaient identifiés dans ces infections, les staphylocoques, les entérobactéries dont les *E. coli*, *P. mirabilis* et *K.pneumoniae* sont majoritairement trouvées.
  - Le parasite qui était également retrouvé est *Trichomonas vaginalis* avec une fréquence de 4.16%

L'antibiogramme effectué a révélé une efficacité relative de plusieurs antibiotiques testés : à titre d'exemple la gentamicine, amikacine et l'imipenème contre les entérobactéries; les beta-lactamines et l'érythromycine vis-à-vis des *Streptococcus sp* et la vancomycine contre les *Staphylococcus sp*, . Nous avons constaté l'existence de cas de résistance, qui

peuvent mettre en échec le traitement antibiotique prescrit. En effet, La totalité des Streptococcus sp ont présenté une résistance moyenne à la tétracycline ; aussi les entérobactéries sont résistantes à l'ampicilline et les staphylocoques sp sont résistants à la pénicilline.

Une analyse microbiologique correcte et fiable sur les prélèvements génitaux féminins, exige la détection de tous les agents microbiens susceptibles d'être à l'origine des symptômes de l'infection génitale. De part de sa complexité, l'analyse microbiologique des prélèvements génitaux féminins reste donc un défi quotidien pour les praticiens du laboratoire ; car sa fiabilité passe par la maîtrise de toutes les étapes techniques, allant de la qualité du prélèvement à l'expression du résultat.

- Nous proposons quelques suggestions et recommandations, tant pour les personnels de santé que pour les malades et la communauté :
- La prévention reste le meilleur moyen de lutte contre les infections. Il est nécessaire d'informer la population en insistant sur les risques des infections sexuellement transmissibles et de contamination par le non respect des règles d'hygiène et sur la nécessité de consulter le gynécologue dès l'apparition des premiers symptômes. Aussi on préconise de faire un retour à la source et la nature des produits hygiéniques. Et de pratiquer des bonnes habitudes alimentaires.
- Aujourd'hui plus que jamais, la maîtrise de la dissémination des infections génitales doit passer par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène notamment dans les services hospitaliers à forte prévalence.
- Le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques «tout en réduisant celles à large spectre», sont utiles et constituent un des facteurs qui va contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des patients.
- Dans ce domaine, plus pratiquement, la coopération permanente entre clinicien et microbiologiste est nécessaire pour un double objectif: thérapeutique et prophylactique: le médecin consultant ne doit pas proposer directement sans tenir compte les résultats de l'antibiogramme.
- Orienter les études vers des progrès génétiques par l'utilisation des nouvelles technologies de pointe permettant une meilleure caractérisation des supports génétiques des résistances d'une part, et d'autres par pour pallier aux phénomènes de transfert génétique entre les souches bactériennes.

- Finalement, on peut affirmer qu'aucun remède miracle ne permet d'éviter l'émergence des souches résistantes, ce phénomène est enrayé par des « mesures simples » d'hygiène et éducation sanitaire.



## Annexes 01

### Questionnaire adressé aux patientes :

Dans le cadre de l'élaboration de notre mémoire de fin d'études, nous vous prions de bien vouloir répondre à ce questionnaire :

#### 1. Tranche d'âge :

- 11 à 20 ans
- 20 à 45 ans
- Plus de 45 ans

#### 2. Statut matrimonial :

- Mariées
- Célibataires
- Divorcés

#### 3. Statut de la femme :




- Enceinte
- Non enceinte

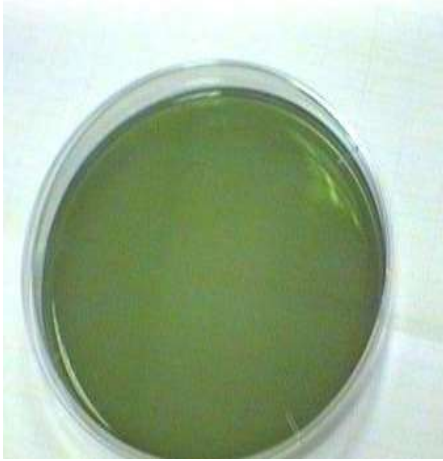



#### 4. L'hospitalisation au moment de prélèvement :

- Hospitalisée
- Non hospitalisée




## Annexe 02

Tableau : Composition et utilisation des milieux de culture

Milieu	Composition	Utilisation
	<p><b>Gélose Nutritive :</b>            Pour un litre d'eau distillée :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-extrait de viande de bœuf.....3g</li> <li>-Peptone .....10g</li> <li>-Extrait de levure.....3g</li> <li>-Chlore de sodium.....5g</li> <li>-Agar.....18g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=7.2</b></p>	<p>Milieu permet la croissance et la numération des germes non exigeants dans les eaux, les boissons, et les produits biologiques</p>
	<p><b>Gélose au sang frais :</b>            Pour un litre d'eau distillée</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone de viande.....10g</li> <li>-Peptone de caséine.....5g</li> <li>-Extrait de levure.....3g</li> <li>-Chlorure de sodium.....5g</li> <li>-Agar.....18g</li> <li>-Sang de mouton.....50 ml</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=6.9</b></p>	<p>Isolement des germes exigent parmi eux : les streptocoques se développent très bien par leur action hémolytique.</p>
	<p><b>Gélose au sang cuit :</b>            Pour un litre d'eau distillée</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone de viande.....7.5g</li> <li>-Peptone de caséine.....7.5g</li> <li>-Amidon de maïs.....1g</li> <li>-Phosphate dipotassique.....4g</li> <li>-Chlorure de sodium.....5g</li> <li>-Hémoglobine.....10g</li> <li>-Agar.....10g</li> <li>-Sang de mouton.....50 ml</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=6.9</b></p>	<p>Isolement des germes exigeants</p>

	<p><b>Gélose heckton</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone pepsique de viande..15g</li> <li>-Extrait de viande.....3g</li> <li>-Extrait de levure.....3g</li> <li>-Lactose.....12g</li> <li>-Salicine.....2g</li> <li>-Saccharose.....12g</li> <li>-Chlorure de sodium.....5g</li> <li>-Sels biliaries.....4g</li> <li>-Bleu de Bromothymol.....0.064g</li> <li>-Fuchshine acide.....0.1g</li> <li>-Agar.....18g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=7.4</b></p>	<p>Pour l'isolement des entérobactéries par la présence de sels biliaries qui assurent le pouvoir sélectif.</p>
	<p><b>Milieu de Chapman</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone.....11g</li> <li>-Extrait de viande.....1g</li> <li>-Chlorure de sodium.....75g</li> <li>-Mannitol.....10g</li> <li>-Rouge de phénol.....0.025g</li> <li>-Agar.....15g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=7.4</b></p>	<p>C'est un milieu qui permet l'isolement sélectif de staphylococcys sur la base d'une tolérance à une forte teneur en NaCl qui assure le pouvoir sélectif.</p>
	<p><b>Gélose Sabouraud Chloramphenicol</b></p> <p>Pour un litre d'eau distillée</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Neopeptone.....10g</li> <li>-Glucose.....20g</li> <li>-Chloramphenicol.....0.5g</li> <li>-Actidione.....0.5g</li> <li>-Agar.....20g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=6.5</b></p>	<p>Milieu utilisé pour la culture et l'isolement et l'identification des levures et des moisissures.</p>
	<p><b>Bouillon nitrate</b></p> <p>Pour 1 litre d'eau distillée</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone de viande.....10g</li> <li>-Extrait de viande.....5g</li> <li>-Chlorure de sodium.....5g</li> <li>-Nitrate de potassium.....1g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH =7</b></p>	<p>Recherche de nitrate réductase</p>



	<p><b>Gélose TSI</b> Composition en gramme par litre d'eau :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Extrait de bœuf.....3g</li> <li>-Extrait de levure.....3g</li> <li>-Peptone.....20g</li> <li>-Chlorur de sodium.....5g</li> <li>-Lactose.....10g</li> <li>-Saccharose.....10g</li> <li>-Glucose.....1g</li> <li>-Citrate ferrique .....3g</li> <li>-Thiosulfate de sodium.....3g</li> <li>-Rouge de phénol.....0.025g</li> <li>-Agar.....12g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=7.4</b></p>	<p>Etudier la capacité de fermenter 3 sucres (glucose, saccharose, lactose) et la capacité de production de H<sub>2</sub>S et le gaz</p>
	<p><b>Mannitol mobilité :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone de viande.....15g</li> <li>-Extrait de viande.....3g</li> <li>-Mannitol.....10g</li> <li>-Potassium nitrate.....1g</li> <li>-Rouge de phénol.....0.05g</li> <li>-Agar.....5g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH=7.4</b></p>	<p>Etudier la capacité de fermenter le Mannitol et la mobilité.</p>
	<p><b>Milieu de Moeller</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Extrait de levure.....3g</li> <li>L-arginine (monochlorhydrate) : 5 g (suivant le cas)</li> <li>Glucose .....1 g</li> <li>Bromocrésol pourpre.....0,16 mg</li> <li>Éthanol.....1 mL</li> <li>Chlorure de sodium.....5 g</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>pH = 6,8</b></p>	<p>La mise en évidence de L'enzyme de l'arginine dihydrolase</p>

**Annexe 03 : Tableau de matériel non biologique**

<p><b>Instrument et appareillages utilisée :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bec bunsen</li> <li>• Microscope optique</li> <li>• Etuve réglée à température de 37c</li> <li>• Réfrigérateur réglé a 4c</li> <li>• Cellule de Nageotte</li> <li>• Pipettes Pasteur</li> <li>• Lames</li> <li>• Lamelles</li> <li>• Pince à lame (api 20 et ses réactifs)</li> </ul>	<p><b>Réactifs et colorants :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• violet de gentiane</li> <li>• Lugol.</li> <li>• Alcool</li> <li>• fuchsine.</li> <li>• Les disques d'antibiotiques.</li> <li>• Eau physiologique.</li> <li>• l'huile de vaseline.</li> </ul>
<p><b>Les milieux de cultures :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gélose nutritive ;</li> <li>• Milieu de Chapman ;</li> <li>• Gélose Muller Hinton ;</li> <li>• Gélose au sang frais ;</li> <li>• Gélose au sang cuit.</li> <li>• Sabouraud</li> </ul>	

## Annexe 04 : Présentation de la galerie API 20 E



## Annexe 05 : Tableau de lecture de la galerie API 20 E (Leyral et al., 1998)

Tests	Substrats	Réaction/Enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
<b>ONPG</b>	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	$\beta$ -galactosidase	Incolore	Jaune (1)
<b>ADH</b>	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/Orangé (2)
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
<b>ODC</b>	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
<b>CIT</b>	Citrate	Utilisation du citrate	Vert pale /jaune	Bleu vert/vert (3)
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/ grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/Orangé
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	<u>TDA/ immédiat</u> marron foncé

<b>IND</b>	Tryptophane	Production d'indole	<u><b>JAMES/</b> immédiat ou <b>IND/2mn</b></u> <b>JAMES</b> Incolore Vert pale-jaune <b>IND</b> Jaune	<b>JAMES</b> Rose  <b>IND</b> anneau rouge
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	<u><b>VP1+VP2/10 mn</b></u> Incolore	rosé-rouge
<b>GEL</b>	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	diffusion de pigmentation noire
<b>GLU</b>	Glucose	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>MAN</b>	Mannitol	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>SOR</b>	Sorbitol	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>RHA</b>	Rhamnose	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>SAC</b>	Saccharose	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>MEL</b>	Melibiose	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune
<b>ARA</b>	Arabinose	Fermentation/ Oxydation (4)	Bleu/bleu vert	jaune

## Annexe 06: Tableaux de lecture des résultats de l'antibiogramme

Table de lecture 4 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Penicilline	10 UI	28	---	29	0,25	-----	0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires ».) Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, piperacilline....)
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> )	1 µg	10	11 – 12	13	4	-----	2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. En cas de résultat intermédiaire ou de discordance entre les disques d'oxacilline et de céfoxitine, se référer au chapitre « Tests complémentaires ». La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline ( <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	----	----	4	-----	2	
Céfoxitine ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	21	---	22	8	-----	4	
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	---	----	0,5	-----	0,25	
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	24	---	25	---	----	---	
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	13	14 – 17	18	64	32	16	Pour <i>S.aureus</i> , les souches résistantes à la Kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quelque soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16	
Erythromycine	15 µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2µg	14	15 – 20	21	4	1-2	0,5	

Suite tableau n° 4: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Vancomycine	CMI	---	---	----	32	8-16	4	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Teicoplanine	30 µg	10	11 – 13	14	32	16	8	
Ofloxacine	5µg	14	15 – 17	18	4	2	1	Interprétation valable pour péfloxacine, lévofloxacine et Ciprofloxacine
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	10	11 – 15	16	4/76	-----	2/38	
Rifampicine	5µg	16	17 – 19	20	4	2	1	
Tétracycline	30µg	14	15 – 18	19	16	8	4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	12	13 – 17	18	32	16	8	
Pristinamycine	15 µg	< 19	19 – 21	≥ 22	> 2		≤ 1	Réponse de la pristinamycine est valable pour la quinupristine-dalfopristine
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1	Tester ces molécules avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10***
Fosfomycine**	50 µg	< 14	-----	≥ 14	> 32		≤ 32	

Table de lecture 1\* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'Aztreonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : cefazoline (2g toutes les 8h), cefotaxime (1g toutes les 8h), ceftazidime (1g toutes les 24h)...
Cefazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative antérieurement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Cefotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftazidime	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème/Méropénème	10µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h. Méropénème : 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales, en testant l'Acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique, (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une co-culture).
Furazone	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indique uniquement pour les souches d'E. coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

http://www.sante.dz/ann

Table de lecture 8\* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Streptococcus spp.* groupe *viridans* (Autres que *S. pneumoniae*).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	CM CLSI	---	---	---	4	0,25-2	0,12	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline. Il faut déterminer la CMI de ces 2 molécules.
Ampicilline	CM CLSI	---	---	---	8	0,5-4	0,25	
Cefotaxime	30µg	25	26-27	28	4	---	1	
Gentamicine**	(CMI – CA- SFM)	---	---	---	> 500	---	250	Il faut déterminer la CMI de la gentamicine dans les infections sévères.
Erythromycine	15µg	15	16-20	21	1	---	0,25	
Clindamycine	2µg	15	16-18	19	1	---	0,25	
Tétracycline	30µg	18	19-22	23	8	---	2	Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées comme sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Vancomycine	30µg	---	---	17	---	---	1	Déterminer la CMI de la vancomycine dans les infections sévères.
Chloramphénicol	30µg	17	18-20	21	16	---	4	
Rifampicine**	30µg	< 24	---	≥ 29	> 0,5	---	≤ 0,06	Tester ces 2 molécules avec un inoculum 0,5 MF.
Pristinamycine**	15µg	< 19	---	≥ 22	> 2	---	≤ 1	
Levofloxacine	5µg	< 13	14-16	≥ 17	8	4	≤ 2	

http://www.sante.dz/ann

Table de lecture 8\* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Streptococcus spp.* groupe *viridans* (Autres que *S. pneumoniae*).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Penicilline	CMI CLSI	---	---	---	4	0.25-2	0.12	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline. Il faut déterminer la CMI de ces 2 molécules.
Ampicilline	CMI CLSI	---	---	---	8	0.5-4	0.25	
Cefotaxime	30µg	25	26-27	28	4	---	1	
Gentamicine**	(CMI - CA- SFM)	---	---	---	> 500	---	250	Il faut déterminer la CMI de la gentamicine dans les infections sévères.
Erythromycine	15µg	15	16-20	21	1	---	0.25	
Clindamycine	2µg	15	16-18	19	1	---	0.25	
Tétracycline	30µg	18	19-22	23	8	---	2	Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées comme sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Vancomycine	30µg	---	---	17	---	---	1	Déterminer la CMI de la vancomycine dans les infections sévères.
Chloramphénicol	30µg	17	18-20	21	16	---	4	
Rifampicine**	30µg	< 24	---	≥ 29	> 0,5	---	≤ 0.06	Tester ces 2 molécules avec un inoculum 0.5 MF.
Pristinamycine**	15µg	< 19	---	≥ 22	> 2	---	≤ 1	
Levofloxacine	5µg	<13	14-16	≥17	8	4	≤ 2	