

Présence inhabituelle de germes dans l'endocol utérin au cours de la grossesse

Kitenge kia Kayembe*,
Mbanzulu PN*, Tozin R*, Takaisi K*,
Nzingula NV*, Kangudia M*, Mbala
NL*.

Correspondance:

Professeur Dr Kitenge Kia Kayembe
e-mail : Charleskitenge2007@yahoo.fr

Summary

Background. Endocervical infection in pregnancy (EIP) is responsible for severe neonatal complications (meningitis) and, maternal complications (premature rupture of membranes, secondary infertility). But, bacterial flora and the pattern of EIP remain unknown in our country.

Objectives:

- To identify microorganisms located within the uterine endocervix;
- and to define profile of pregnant women having EIP.

Material and methods: In this cross sectional multicentric study, 310 pregnant women from University hospital of Kinshasa (n=40), Saint Marc maternity of Kngasani (n=180) and Saint Luc Hospital of Kisantu (n=90) were enrolled between January 2000 and January 2003. After cleaning the vagina and the uterine endocervix with Dermobacter solution, specimens were taken and examined using biochemical tests to identify potential microorganisms.

Results: Frequency of EIP in this survey was 9.4%.

The microorganisms mostly encountered were *Staphylococcus aureus* (48.3%), *Staphylococcus epidermidis* (31%), *Escherichia coli* (13.8%) and *Klebsiella oxytoca* (6.9%). Pregnant women living in polygamic union (14.3%) and single pregnant women were most frequently affected.

Conclusion: Cutaneous microorganisms can also colonize uterine endocervix in pregnancy. Polygamic union and single pregnant women appear as high risk group. Further studies are required to evaluate the risk of maternofetal infection and to state the drug prophylaxis.

Key words: endocervix; infection; microorganism; pregnancy.

* Département de Gynécologie-Obstétrique
Cliniques Universitaires de Kinshasa
B.P. 123 – Kinshasa-XI, RDC
** Faculté de Pharmacie
Département de Microbiologie
B.P. 123 – Kinshasa-XI, RDC

Résumé

Contexte : Les infections endocervicales (IEC) sont responsables au cours de la grossesse, de la survenue des complications périnatales parfois sévères pour le nouveau-né (méningites) et pour la mère (rupture prématurée de la membrane, infertilité secondaire). Mais la flore bactérienne et le profil des gestantes porteuses ne sont pas bien connus dans notre pays.

Objectifs :

- Identifier les germes présents dans l'endocol utérin pendant la grossesse;
- et décrire les caractéristiques des gestantes porteuses de IEC.

Matériel et Méthodes : Dans cette étude transversale multicentrique, 310 gestantes des Cliniques Universitaires de Kinshasa (n= 40), de la maternité Saint Marc de Kingasani (n= 180) et de l'Hôpital Saint Luc de Kisantu (n= 90) ont été enrôlées entre Janvier 2000 et Janvier 2003. L'identification des germes a été faite par des tests biochimiques après nettoyage du vagin et de l'endocol avec une solution de Dermobacter®.

Résultats : La fréquence de l'IEC dans cette enquête était de 9,4%. Les germes les plus rencontrés étaient : le *Staphylococcus aureus* (48,3%), le *Staphylococcus epidermidis* (31%), l'*Escherichia coli* (13,8%) et le *Klebsiella oxytoca* (6,9%).

Les gestantes vivant en mariage polygamique (14,3%) ainsi que les gestantes célibataires (12,3%) étaient les plus touchées.

Conclusion : Les germes cutanés peuvent également coloniser l'endocol utérin chez les gestantes. Le mariage polygamique et le célibat semblent constituer des facteurs de risque dans notre milieu. Mais des études de plus grande envergure sur le portage génital bactérien de la femme enceinte sont nécessaires pour préciser le risque infectieux maternofœtal et l'antibioprophylaxie.

Mots clé : endocol utérin ; infection ; germe ; grossesse.

Introduction

L'infection endocervicale (IEC) pendant la grossesse a longtemps été redoutable et justifiait des secteurs d'isolement dans les maternités en particulier contre la fièvre puerpérale.

En effet, l'IEC pendant la grossesse ou juste après l'accouchement peut constituer une menace réelle tant pour l'embryon ou le fœtus que pour la mère (1). Chez cette dernière, l'IEC peut occasionner la rupture prématurée des membranes (RPM), définie comme une solution de continuité des membranes ovulaires avant tout début de travail (1-4). C'est une pathologie fréquente en obstétrique qui tire son intérêt dans ses complications : la prématurité et la chorioamniotite (5-8). La surdistension utérine, l'incompétence cervico-isthmique et l'infection cervico-vaginale sont parmi d'autres facteurs incriminés dans la survenue de la RPM. S'il est difficile de prévenir les premières étiologies, on peut toutefois rechercher les germes au niveau du vagin et du col avant ou au cours de la grossesse et soumettre la gestante à un traitement qui pourrait permettre d'éradiquer l'infection et d'éviter la fragilisation des membranes ovulaires et leur rupture.

Il est bien établi à ce jour que les germes de l'infection des voies génitales de la femme s'adaptent aux conditions écologiques de chaque milieu. De plus, la responsabilité d'une espèce donnée varie souvent selon les périodes (1, 9). Il est plus que nécessaire, surtout en zones tropicales où les conditions climatiques sont favorables à la multiplication rapide des germes (10), d'actualiser régulièrement la connaissance de l'écologie bactérienne, surtout pour les germes qui sécrètent les protéases responsables de la fragilisation des membranes ovulaires, exposant la grossesse à la RPM (1, 9, 11-13). Ainsi, la présente étude s'est proposée :

- d'identifier les germes présents dans l'endocol utérin de façon inhabituelle pendant la grossesse ;
- et de décrire le profil des gestantes porteuses de ces agents bactériens.

Matériel et méthodes

Nature, lieu et période de l'étude

Cette étude descriptive, transversale, et multicentrique s'est déroulée respectivement à la salle d'accouchement des Cliniques Univer-sitaires de Kinshasa (SACUK), à la maternité de l'Hôpital Saint Luc de Kisantu (HSLK) et à la maternité Saint Marc de Kingasani (MSMKI) durant la période de janvier 2000 à janvier 2003 (3 ans).

Patientes

Les prélèvements endocervicaux ont été réalisés chez 310 parturientes retenues soit pour confirmation de la grossesse débutante, soit pour la première consultation prénatale (CPN) ainsi que celles hospitalisées pour RPM.

Toutes les gestantes devaient satisfaire aux critères d'inclusions suivants :

- avoir une grossesse entre 12 et 32 semaines d'aménorrhée (SA),
- n'avoir pas été soumise à un quelconque traitement par antibiotiques 15 jours auparavant ;
- et avoir consenti verbalement à participer à l'étude.

Prélèvement des sécrétions endocervicales

La procédure pour le prélèvement a respecté les étapes rapportées et validées par de nombreuses études (3-6, 14).

Après visualisation du col à l'aide d'un spéculum et d'une bonne source de lumière, nous procédions au nettoyage du vagin et de l'exocol avec une compresse imbibée de solution pure de Dermobacter[®] suivi d'un rinçage à la solution saline 0,9% stérile et d'un séchage par un tampon sec d'ouate stérile. Le prélèvement proprement dit dans la cavité fusiforme de l'endocol était effectué grâce à un écouvillon après un

frottement léger et prolongé. Deux écouvillons étaient distinctement destinés : le premier à la coloration de Gram et le second pour la culture en vue de l'identification des germes.

Examen de Gram

La coloration de Gram était un préalable au choix du milieu de culture. Elle était effectuée selon le protocole usuel des CUK. Il a été réalisé de la manière suivante :

- dégraissage des lames à la chaleur douce ;
- étalement des sécrétions endocervicales sur la lame porte-objet suivi du séchage de celle-ci à l'air libre ;
- fixation de la préparation à la chaleur douce ;
- intervenait ensuite, la coloration avec la solution de Violet de Gentiane pendant 1 minute suivie d'un lavage à l'eau courante;
- l'alcool acétone goutte à goutte était alors utilisé jusqu'à la disparition de la couleur violette avant un second rinçage à l'eau;
- l'échantillon était ensuite coloré avec la solution de Safranine pendant 45 à 60 secondes avant un nouveau rinçage à l'eau ;
- la lecture intervenait au microscope optique à l'objectif $\times 10$, puis à l'objectif $\times 100$ (à immersion) après séchage de la lame.

Protocole de la culture des germes

Après ensemencement des écouvillons dans le bouillon nutritif pour permettre la croissance des germes, la recherche des bactéries a été faite selon la technique directe dans les milieux sélectifs Mannitol-Salt-Agar ou Gélose au sang ou encore dans le milieu de Mac Conkey.

Les échantillons étaient incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Le produit ensemencé dans les milieux sélectifs de Mac Conkey et Mannitol-Salt-Agar était placé également en incubation dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

L'identification des bactéries en culture était réalisée à l'aide des tests biochimiques. Les cocci étaient isolés dans la gélose au sang ou dans le Mannitol-Salt-Agar, milieux permettant l'identification du *Staphylocoque* ; tandis que le *Streptocoque* était isolé et identifié dans la gélose au sang. Les entérobactéries étaient isolées sur le milieu de Mac Conkey, milieu sélectif, puis ensuite, identifiées sur les milieux Klinger, Mobile-Indole-Uréase et Citrate de Simmons.

Paramètres d'étude

Les paramètres d'intérêt étaient : l'âge, la parité, l'état matrimonial (célibataires, mariées vivant dans un mariage polygamique ou monogamique) des gestantes. L'âge de la grossesse au moment du recrutement, l'état des membranes ovulaires (rompues ou non) ainsi que les germes isolés étaient également considérés.

Statistiques

Les données sont présentées sous forme des nombres absolus, proportions, et des moyennes majorées de l'écart-type.

Le test de Chi-carré a permis de comparer les proportions. Le seuil de signification était fixé à $p < 0,05$.

Résultats

Caractéristiques générales des gestantes

Age

Cette étude a inclus 310 gestantes d'âge moyen de 26 ± 8 ans (extrêmes 16-42 ans).

La répartition de ces gestantes par tranches d'âges de 5 ans est rapportée dans le tableau 1.

Tableau 1. Les gestantes regroupées par tranches de 5 ans

Tranches d'âges (ans)	N=310	%
16 - 20	104	33,5
21 - 25	89	28,7
26 - 30	70	22,5
31 - 35	27	8,7
36 - 40	14	4,5
≥ 41	6	1,9

Parité

La parité des gestantes était en moyenne de 4 (extrême 0 et 6). Les nullipares et les primipares ont constitué 66,7% de notre échantillon. La répartition des gestantes par parité est détaillée dans le tableau 2.

Tableau 2. Parité des gestantes

Parité	N=310	%
Nullipares	158	50,9
Primipares	49	15,8
Multipares	103	33,2

Etat matrimonial des gestantes

Le regroupement des gestantes suivant leur état civil nous a permis de constituer 3 classes (gestantes célibataires, gestantes issues de mariage monogamique ou polygamique). Les gestantes mariées ont représenté 74% des sujets étudiés (tableau 3).

Tableau 3. Etat civil des gestantes

Etat civil	N=310	%
Gestantes, mariage monogamique	124	40
Gestantes, mariage polygamique	105	33,9
Gestantes célibataires	81	26,1

Profil des gestantes

Age de la grossesse

L'âge moyen des grossesses était de 23 ± 6 semaines d'aménorrhée (SA) (extrêmes

entre 12 et 32). Une grossesse sur quatre (25%) avait atteint l'âge de viabilité fœtale (28 SA).

La répartition de ces grossesses par tranches de 5 SA figure dans le tableau 4.

Tableau 4. Répartition des grossesses par tranches de 5 SA

Age gestationnel (semaines)	N=310	%
12 - 16	53	17,0
17 - 21	68	21,9
22 - 26	112	36,1
27 - 31	43	13,9
> 31	34	11,0

Concernant l'état des membranes ovulaires, 220 gestantes (71%) avaient des membranes intactes contre 90 (29%) qui présentaient des membranes rompues.

Etude bactériologique

Sur les 310 gestantes examinées, seules 29 (9,4%) portaient des germes au niveau de l'endocol. Dans le groupe des porteuses de germes, 22 gestantes (75,8%) avaient les membranes rompues, suggérant un rôle possible de l'infection dans cette RPM.

La distribution des germes dans l'endocol utérin suivant l'état matrimonial des gestantes est décrite dans le tableau 5.

Les germes ont été plus fréquemment rencontrés dans le groupe des gestantes de mariage polygamique ($\chi^2 = 8$; ddl = 1; $p < 0,05$) et les gestantes célibataires ($\chi^2 = 4$; ddl=1; $p < 0,05$), tandis qu'aucune différence n'a été observée entre ces 2 derniers groupes ($\chi^2 = 0,154$; ddl = 1; $p > 0,05$).

Tableau 5. Distribution des germes selon l'état matrimonial des gestantes

Etat matrimonial des gestantes	N=310	Nbre de germes	%
Gestantes de mariage monogamique	124	4	3,2
Gestantes de mariage polygamique	105	15	14,3
Gestantes célibataires	81	10	12,3

Nature des germes isolés dans l'endocol utérin

Quatre germes différents ont été identifiés dans les sécrétions de l'endocol utérin : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca*. La fréquence de leur présence est illustrée dans le tableau 6.

Tableau 6. Nature des germes isolés dans l'endocol utérin

Nature des germes	Fréquences	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	48,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	31,0
<i>Escherichia coli</i>	4	13,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	6,9
Total	29	100

Discussion

L'endocol utérin est une cavité habituellement stérile. La présence de tout germe à ce niveau au cours de la grossesse constitue une menace sérieuse pour l'évolution de celle-ci (4, 5, 7, 13).

La présente étude a permis de noter une fréquence de l'infection endocervicale au cours de la grossesse de 9,4%.

Nous avons mis en évidence la présence de germes suivants : *Staphylococcus aureus* (n=14), *Staphylococcus epidermidis* (n=9), *Klebsiella oxytoca* (n=2) dans l'endocol. Ces germes ont été identifiés surtout chez les gestantes ayant présenté une RPM suggérant leur probable rôle étiologique dans cette pathologie (75,8%).

Les Staphylocoques ne sont pas des germes habituellement rencontrés dans le milieu cervico-vaginal. Plusieurs travaux (6, 13-14, 16) rapportent la présence des entérobactéries comme l'*Escherichia coli*, le *Proteus*, le *Klebsiella* et autres. Ces mêmes germes colonisent le rectum et passent dans les voies génitales et urinaires soit par voie hématogène ou de proche en

proche surtout quand l'hygiène est déficiente.

Les mesures d'asepsie rigoureuse utilisées dans le présent travail permettent d'amoindrir le risque de contamination de l'endocol à partir de la flore cutanée généralement représentée par les staphylocoques. Les staphylocoques doués d'un pouvoir de production des protéases peuvent également fragiliser les membranes ovulaires. Leur présence dans cet environnement peut donc occasionner la rupture des membranes tant redoutée par les accoucheurs. Le rôle du staphylocoque dans la RPM est également rapporté dans quelques travaux antérieurs (18, 20).

Une enquête menée en 1993 aux CUK, par Buledi *et al.* a recherché les germes dans le liquide amniotique chez des gestantes avec RPM. Cette étude a identifié en ordre décroissant : le *Klebsiella*, l'*Escherichia coli* et moins fréquemment le staphylocoque dans ce milieu.

La disparité d'avec nos résultats pourrait relever de la nature différente des échantillons et de l'origine des prélèvements mais aussi de la notion de variabilité des germes en fonction de la période de prélèvement rapportée également par Borg *et al.* (1) ou en fonction de la pression exercée sur les germes par l'usage incontrôlé des antibiotiques en extra ou en intra-hospitalier(9).

Nous pouvons également évoquer sans l'avoir démontré, le rôle possible de l'infection à VIH sur la pathogénicité de certains germes habituellement saprophytes. Notre étude a noté également une prédominance des germes dans les sécrétions endocervicales des gestantes issues de mariages polygamiques et des gestantes célibataires. La polygamie comme le célibat exposent à la promiscuité sexuelle et les rapports sexuels non protégés par le

préservatif, au-delà du portage extemporané de la flore microbienne, facilitent le transport de la flore de l'environnement vulvo-périnéal vers les orifices génito-urinaires (1, 4, 12).

Il faut cependant reconnaître les limites de cette enquête dont il faut tenir compte dans l'interprétation des résultats. Il s'agit notamment de l'absence de la quantification des germes isolés, de l'antibiogramme ainsi que du statut sérologique vis-à-vis du VIH des gestantes étudiées.

Conclusion

La présence des germes dans l'endocol utérin, milieu habituellement stérile est démontrée dans cette étude. Les gestantes vivant en mariage polygamique et les gestantes célibataires semblent plus exposées à cette colonisation microbienne. Cette situation soulève la problématique d'une antibioprophylaxie en vue de minimiser les complications de la grossesse telles que la RPM surtout dans les groupes à risque. Des études à plus grande échelle et à visée étiopathogénique et thérapeutique sont à envisager.

Références

1. Boog G. La rupture prématurée des membranes. In Toulon J.M. *et al.*, Obstétrique, Ellipses, Paris, 1995 ; 572-579.
2. Buledi N. Rupture prématurée des membranes. A propos de 145 cas. Mémoire de Spécialisation en Gynécologie et Obstétrique, Unikin, 1993, pp.140.
3. Carbonnelle B, Marmonier A, Pinon G et Vorgues R. Bactériologie médicale : Techniques, SIMEP SA, Paris, 1987 ; 83-92.
4. Carbonelle B, Goffinit F, Nissand I, Subtil D. Rupture prématurée des membranes. In Carbonnelle B : Mise à jour en gynécologie et obstétrique. Ed. Vigot, Paris, 2000, 341-345.
5. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Infections cervicovaginales et grossesse. Recommandations pour la pratique clinique. <http://www.engof-asso.fr>, 1997, 1-8.
6. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Infections cervicovaginales au cours de la grossesse. EMC, Gynécologie (Obstétrique) Paris, 1999, 5-047-630, 1-6.
7. Cristiano L, Rampello S, Nous C, Valota V. Bacterial vaginosis prevalence in Italian population of asymptomatic pregnant women and diagnostic aspects. *Eur. J. Epidemiol.* 1996 ; **12** : 383-390.
8. Delcroix M. Infections cervicales. Ed. Masson, Paris, 1994 ; 181-195.
9. Mc Gregor JA, French JL, Parker R, Draper D, Petterson E, Jones W *et al.* Prevention of premature birth by screening and treatment for common genital tract infections: Results of a prospective controlled evaluation. *Am J Obstet Gynecol.* 1995, **173**; 157-167.
10. Gentilini M, Gormis E, Danis M, Mouchet J, Duflo B, Lagardère B *et al.* Les affections parasitaires / Les affections non parasitaires. In Médecine Tropicale : Médecine – Sciences – Flammarion, 1995 ; 9-11.
11. Ville Y. Accouchement prématuré et inflammation. Le syndrome inflammatoire materno-fœtal. *J. Gynécol. Obstét. Biol. Repr.* 2001 ; **30** (Suppl. au n°1) : 12-16.
12. Delecroix M, Guérin de Masgenet B. Les leucorrhées. In Decision en gynécologie obstétrique, Maloine, Paris, 2001 ; 35-63.
13. Delcroix M, Guérin de Masgenet B. Accouchement prématuré, perte de liquide amniotique. In Decision en gynécologie obstétrique. Ed. Maloine, Paris, 2001 ; 307-319.
14. Lejeune C. Streptocoque B et grossesse. In Cabrol *et al.*, Traité d'obstétrique, Médecine – Sciences – Flammarion, 2003 ; 527-533.
15. Martani-Kurdjan P, Bingew E. Rupture des membranes entre 24 et 34 SA. Flore bactérienne génitale et risque infectieux materno-foetal. SFMP : Obstétrique 2001, 3-6.
16. Marret H. La rupture prématurée des membranes en dehors du travail : Conduite à tenir. In Lansac J *et al.*, Pratique de l'accouchement, Masson, Issy-les-Moulineaux, Cedex, 2006, 273-291.
17. Ndarugirire B, Nisand I. Rupture des membranes entre 24 et 34 SA. Complications maternelles. SFMP : Obstétrique, 2001 ; 1-2.

18. Simoes JA, Giraldo PC, Foundes A. Prevalence of cervico-vaginal infections during gestation and accuracy of clinical diagnosis. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol* 1998; **6**:129-133.
19. Truffet P, Ego A, Subtil D. Prématurité extrême (<28 SA mortalité et morbidité neurologique). In Carbonnelle B. Mise à jour en Gynécologie et Obstétrique, Ed. Vigot, Paris, 2007 ; 71-80.
20. Vial Courmont M, Arnaud F, Guibert M, Lacaze Mosmonteil T. Epidémiologie de l'infection bactérienne materno-fœtale : Expérience d'un Centre périnatal. *J. Pédiatr. Puériculture* 2000 ; **13** (Suppl 1):1-9.