

16 • Examen bactériologique des prélèvements périnataux

Plan du chapitre

- 1• Contexte : évaluation du risque infectieux périnatal
- 2• Objectifs
- 3• Prélèvements
- 4• Examens microbiologiques
 - 1- Micro-organismes à rechercher
 - 2- Examen direct
 - 3- Culture
 - 4- Antibiogramme

1 • Contexte : évaluation du risque infectieux périnatal

La contamination périnatale peut se produire *in utero*, lors de l'accouchement, ou après l'accouchement.

1- Infection in utero

Le fœtus est contaminé par voie transplacentaire au cours d'une bactériémie maternelle.

Ces infections contractées **pendant la vie intra-utérine** conduisent à des pathologies fœtales ou/et néonatales toujours sévères (avortement, prématurité, malformations, syndrome infectieux congénital).

Les bactéries en cause sont celles capables d'infecter la mère et capables de coloniser le fœtus par voie transplacentaire (*Listeria monocytogenes* est l'espèce la plus caractéristique de ce type d'infection).

2- Infections néonatales

Le fœtus est contaminé par le liquide amniotique qui a été lui même infecté à partir des voies génitales (chorio-amnionite). Il peut aussi s'infecter lors de l'accouchement, au passage de la filière génitale. Les germes infectants sont souvent ingérés par le nouveau-né.

Ce type de colonisation massive contractée **à la naissance** peut conduire à des pathologies infectieuses néonatales qui sont graves d'emblée et sont dominées par des signes respiratoires.

Les bactéries en cause sont celles qui colonisent les voies génitales maternelles, le plus souvent sans conséquences pathologiques pour la mère. Certaines de ces espèces sont qualifiées d'espèces à "**haut risque infectieux**" pour le nouveau-né.

Les espèces actuellement reconnues à "haut risque infectieux" pour le nouveau-né sont les suivantes :

- *Streptococcus agalactiae* (groupe B, types III et I) ;
- *E. coli* (classiquement de type capsulaire K1) ;
- *H. influenzae* (biotype 4) et *H. haemolyticus*.

Les autres commensaux du vagin pouvant être impliqués dans une infection néonatale sont :

- *Staphylococcus aureus* ;
- *Streptococcus spp*, et *Enterococcus spp* ;
- Entérobactéries ;
- *Gardnerella vaginalis* ;
- Anaérobies strictes ;
- *Mycoplasma*, *Ureaplasma*.

Enfin, les germes responsables de pathologies vénériennes chez la femme (*Chlamydia*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*) peuvent également infecter le nouveau-né. La détection de ces infections ne sera pas traitée dans ce chapitre. Les infections virales du nouveau-né (*Herpes viridae* VIH, hépatites), qui sont également détectées à la naissance, ne seront pas envisagées.

3- Infections post-natales

Dans les huit jours qui suivent la naissance, l'enfant peut être contaminé par des micro-organismes de l'environnement ou d'origine maternelle. Les tableaux cliniques de ces infections tardives du nouveau-né sont souvent dominés par des signes méningés.

4- Critères décisionnels pour instituer un traitement anti-infectieux chez un nouveau né

Le pronostic de l'infection du nouveau-né est directement dépendant de la **rapidité de mise en œuvre du traitement**. La décision de traiter se fait dès la naissance, parfois même avant, sur un faisceau d'arguments anamnestiques, cliniques, biologiques et bactériologiques. Des tentatives ont été faites pour établir des systèmes consensuels de scores décisionnels. Cependant, devant la grande diversité de ces systèmes et l'**absence de consensus**, chaque équipe obstétricale continue d'utiliser ses propres règles.

Il faut noter que les critères microbiologiques et notamment les résultats des examens directs des prélèvements pratiqués à la naissance influencent la décision de traiter.

◆ Examens des prélèvements néonataux

Les examens des prélèvements gastriques, cutanés et orificiels pratiqués **dès la naissance** sont les plus informatifs. Un diagnostic présomptif doit être fait et transmis dès **l'examen direct** de ces prélèvements.

Les critères suivants sont les plus habituellement retenus :

- présence de bactéries "à risque" dans l'un des prélèvements néonataux,

ou

- présence d'une souche bactérienne, quelle qu'en soit l'espèce, dans le liquide gastrique ou dans deux autres prélèvements néonataux.

◆ Examens des prélèvements périnataux

Certains examens peuvent venir compléter les prélèvements néonataux (examens du méconium, de l'aspiration trachéale, du placenta, des lochies). La valeur des renseignements qu'ils fournissent est inférieure à celle des prélèvements néonataux. Cependant, la présence d'une des bactéries à risque dans l'un de ces prélèvements peut confirmer le diagnostic d'infection.

◆ Examens bactériologiques standards

Comme lors de n'importe quel syndrome infectieux, des prélèvements bactériologiques standard (hémocultures, ECBU, examen du LCR) sont pratiqués en présence de signes cliniques d'infection du nouveau-né.

2• Objectifs des examens bactériologiques

Les examens bactériologiques prescrits au cours des infections du nouveau-né ont pour but :

- d'établir les critères bactériologiques qui participent à la prise de décision de traiter un nouveau-né dès la naissance (voir plus haut).
- d'isoler, identifier et déterminer la sensibilité aux antibiotiques, des bactéries responsables d'infection au cours des premiers jours de la vie.
- d'apporter des critères bactériologiques d'évolution de ces infections.

3• Prélèvements

1- Prélèvements pratiqués chez le nouveau-né

On distingue plusieurs types de prélèvements.

➔ Prélèvements dont les résultats sont urgents

Ils sont effectués et acheminés à température ambiante dans l'heure (si possible) qui suit la naissance et examinés dans les meilleurs délais.

Ils doivent être accompagnés des renseignements cliniques ainsi que l'heure de naissance et de prélèvement.

◆ Aspiration gastrique :

Quelques ml de liquide gastrique sont aspirés à l'aide d'une sonde gastrique n° 8 montée sur une seringue de 10 ml et munie d'un piège à liquide.

◆ Ecouvillonnages de sites cutanés et orificiels :

L'écouvillonnage de 1 à 3 sites cutanés et orificiels (un pli, une narine et un conduit auditif par exemple) est acheminé à température ambiante.

En cas d'acheminement différé, transporter les écouvillons dans des milieux de transport de type Stuart.

➔ Prélèvements complémentaires

Ces prélèvements sont éventuellement effectués dans les 24 h qui suivent la naissance.

◆ Prélèvement de méconium

Normalement, le méconium est émis dans les 48 h. Une émission précoce peut être un signe d'infection.

Quelques ml sont prélevés à l'aide d'une spatule stérile et acheminés à température ambiante.

◆ Prélèvement de placenta

Un échantillon du placenta peut être prélevé par carottage à l'aide d'un scalpel stérile, de préférence dans une zone d'aspect macroscopique anormal.

Si l'acheminement est différé, il faut conserver l'échantillon à + 4°C.

➔ Prélèvements spécifiques

En présence d'un contexte "à risque", des hémocultures, une ponction de LCR et des prélèvements périphériques (ECBU) sont pratiqués et traités de façon habituelle par le laboratoire.

2- Recherche de micro-organismes "à risque" chez la mère

↳ Examen bactériologique de l'endocol.

L'infection chorioamniotique ascendante commence par une colonisation de l'endocol. L'examen d'un prélèvement d'endocol correctement réalisé (sans contamination vaginale) peut permettre d'identifier la bactérie responsable de la colonisation voire de l'infection. Cet examen peut être pratiqué lors de la dernière consultation avant la date prévue de l'accouchement.

La technique de prélèvement est déterminante pour éviter les contaminations vaginales. Il faut d'abord nettoyer correctement l'exocol avec un écouvillon peu serré et imbibé d'eau physiologique stérile puis prélever l'endocol avec un écouvillon serré qui sera tourné plusieurs fois dans l'endocol et retiré en évitant tout contact avec les parois du vagin.

Il faudra rechercher par culture tous les germes pouvant être responsables de chorioamniotite bactérienne et en priorité, les germes à "haut risque infectieux" pour le nouveau-né.

↳ Autres recherches.

Streptococcus agalactiae peut être recherché au niveau vaginal et anal lors de la dernière consultation avant la date prévue pour l'accouchement.

La recherche, dans les voies génitales basses, des autres micro-organismes qui y sont normalement présents est inutile.

L'existence d'une MST chez une femme enceinte fait courir un risque infectieux grave au nouveau-né. La recherche des micro-organismes responsable de MST doit être pratiquée chez la femme enceinte selon les techniques habituelles (voir chapitre MST).

↳ Examen bactériologique du liquide amniotique

Cet examen est pratiqué en période prénatale en cas de rupture précoce et prolongée de la poche des eaux. Ce type de prélèvement est traité comme un prélèvement normalement stérile. Les Entérobactéries, les streptocoques, les *Listeria*, les *Haemophilus*, les *Gardnerella* mais aussi tous les autres germes aérobies ou anaérobies commensaux normaux des voies génitales de la femme doivent être recherchés.

La technique de prélèvement est déterminante pour éviter de contaminer le liquide lors du passage dans le vagin. Il faut d'abord nettoyer

correctement l'exocol puis prélever, sous spéculum, au niveau du col, une quantité suffisante (0,5 ml) de liquide amniotique.

Les résultats de l'examen direct sont transmis sans délai.

4 • Pratique des examens microbiologiques

1- Micro-organismes à rechercher

Les pathogènes suivants doivent être recherchés systématiquement dans tous les prélèvements pratiqués chez la mère ou l'enfant :

Streptococcus agalactiae, *E. coli* (notamment K1), *H. influenzae*, *Listeria monocytogenes*.

Toute autre espèce isolée dans **le liquide gastrique ou dans plus d'un des prélèvements pratiqués à la naissance chez l'enfant** doit être considérée comme pathogène potentielle. Ces souches doivent donc être identifiées et faire l'objet d'un antibiogramme. Il en est, bien sûr, de même des souches isolées des hémocultures, du LCR, des ECBU et des autres prélèvements périphériques.

2- Examen direct

↳ Liquide gastrique

Confectionner des frottis et les colorer par la méthode de Gram. Rechercher par examen microscopique :

- les polynucléaires,
- les bactéries,
- les levures.

En général, s'il s'agit d'une véritable infection, le frottis est riche en bactéries monomorphes.

La présence de morphotypes évoquant les streptocoques, les Entérobactéries, les *Haemophilus* ou les *Listeria* doit éveiller l'attention.

La présence d'une flore abondante et variée doit faire craindre une contamination liée à un prélèvement trop tardif ou à de mauvaises conditions d'acheminement.

L'examen direct du liquide gastrique est primordial pour interpréter les autres résultats bactériologiques.

↳ Méconium

Le méconium est normalement stérile. L'examen se pratique comme pour le liquide gastrique.

➔ Prélèvements sur écouvillon

Ces prélèvements sont fréquemment contaminés par la flore vaginale de la mère ou/et la flore cutanée et de l'environnement.

On recherche par examen microscopique après coloration de Gram :

- les polynucléaires,
- les bactéries,
- les levures.

Les examens directs de ces prélèvements sont moins informatifs que celui du liquide gastrique.

➔ Autres méthodes de diagnostic rapide

Des méthodes rapides de mise en évidence d'infections bactériennes ont été proposées pour détecter la présence de bactéries dans les prélèvements néonataux. A ce jour, il n'en existe pas de plus fiables que l'examen direct. En particulier, la recherche des **antigènes bactériens solubles** ne peut constituer qu'un outil supplémentaire permettant au biologiste d'étayer un premier résultat.

Les méthodes utilisant l'amplification génique ou les sondes nucléiques ne sont pas encore validées.

3- Culture

Les résultats de la culture sont indispensables pour documenter précisément l'infection et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des germes infectants.

On peut ensemercer :

- un milieu riche (gélose au sang cuit supplémentée),
- un milieu sélectif des streptocoques et des *Listeria* (gélose au sang + acide nalidixique-colistine ou ANC),
- un milieu sélectif des bacilles à Gram négatif,
- un milieu solide pour la recherche d'anaérobies strictes dans le liquide gastrique.

Les milieux sont incubés 48 h à 37°C et, dans le cas des milieux au sang, sous 5 à 10% de CO₂.

Les germes à risque doivent être systématiquement recherchés.

La présence d'**espèces commensales non "à risque"** doit être interprétée avec précaution. La présence d'une de ces espèces comme flore dominante de deux prélèvements multi-sites est néanmoins considérée comme un signe d'infection.

Les souches de *Listeria* seront adressées au centre de référence.

La détermination du groupe capsulaire K1 de *E. coli* se fait par agglutination sur lame.

Les *Haemophilus* seront identifiés.

L'identification des autres bactéries considérées comme pathogènes est menée jusqu'au stade de l'espèce.

4- Antibiogramme

L'antibiogramme est pratiqué sur les souches considérées comme pathogènes.

Pour les espèces les plus fréquemment en cause, il faudra détecter les phénotypes de résistance suivants :

- *E. coli* K1 : phénotypes de résistance acquise des entérobactéries.
- *S. agalactiae* : résistance aux macrolides, résistance aux cyclines.
- *H. influenzae* : présence d'une β-lactamase.
- *Listeria* : rechercher la résistance naturelle aux céphalosporines, les résistances acquises aux macrolides, aux fluoroquinolones, au cotrimoxazole.

Bibliographie

BAKER CJ. Group B streptococcal infections. Infect. Perinatal. 1997, 24 : 59-57.

BARTLETT JG, MOON NE, GOLDSTEIN RP, GOREN B., ONDERDONK AB, POLK BF. Cervical and vaginal bacterial flora : ecologic niches in the female lower genital tract. Am. J. Obstet. Gynecol. 1978, 130 : 658-661.

CARROL SG, PAPAIONNOU S, NTUMAZAH IL, PHILPOTT-HOWARDJ, NICOLAIDES KH. Lower genital tract swabs in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabour rupture of membrane. Br. J. Obstet. Gynecol. 1996, 103 : 54-59.

Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal Group B streptococcal disease : a public health perspective. MMWR, 1996, RR-7 : 1-23.

PIERRE F., QUENTIN R., GOLD F., BERGER C. Infection bactérienne maternofoetale. Editions Techniques, Paris. Encycl. Med. Chir., Obstétrique, 5040 C10, 1992, 12 p.

QUENTIN R. Recommandations pour la pratique clinique. Flores bactériennes génitales chez la femme enceinte. J. Gynecol. Obstet. Bio. Reprod. 1997, 26 : 9-12.