

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA 1-



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**ANTIBIORESISTANCE D'*ESCHERICHIA COLI*
SEROTYPE K1 CHEZ LES FEMMES ENCEINTES**

Thèse de fin d'étude

Présentée en vue d'obtention du diplôme de Docteur en pharmacie

Session : Août 2020

Présentée par :

- **DERBAL SELMA**
- **FELLOUS ILHEM IKRAM**

Devant le jury :

- **P.S.OUKID MCB (Promotrice)**
- **P. M.L. BOUDJELLA Immunologie**
- **D. M. DRAOUA**

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui l'on voudrait témoigner toute notre gratitude.

Nous souhaitons tout d'abord adresser notre reconnaissance à la promotrice de ce mémoire, Professeur OUKID Samira, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous désirons également remercier toute l'équipe du laboratoire d'analyse de l'unité Hassiba Ben Bouali et tous les intervenants professionnels qui nous ont aidés à assurer la partie pratique de ce mémoire.

Nous voulons exprimer notre reconnaissance envers les amis et collègues qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

Enfin, nous aimerions témoigner notre gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

Dédicace

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce mémoire.

Je voudrais dédier dans un premier temps ce mémoire à Allah le tout puissant puis à mes chers parents pour leur soutien, leur encouragement et surtout la confiance qu'ils ont placé en moi.

Je dédie également cette thèse à ma sœur Meriem, à mon binôme Selma et à tous ceux qui m'ont aidé dans ce travail.

Ikram

Dédicace

Je dédie cette thèse :

A Allah le miséricordieux, Puisses-tu me rendre digne de ce titre de Docteur en pharmacie.

À Mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études. Puisse Allah leur accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie.

À Mes sœurs Amina et Mounia, et à mon frère Walid et à ma belle-sœur Hadjer, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Merci d'être toujours là pour moi.

À ma grand-mère qui m'a accompagné par ses prières, et sa douceur.

À mes amies Amina et Yasmine, Rima et Ikram ma binôme qui étaient toujours là pour me soutenir, m'aider et m'écouter. Que Dieu les protège et que notre amitié reste intacte à jamais.

*À tous mes camarades, en Souvenir des plus beaux
instants qu'on a passés ensemble.*

Aussi bien à tous ceux qui m'ont aidé. Merci

Selma

ABREVIATIONS

- **AAF : Aggrégative Adherence Factor**
- **ADH : Arginine dihydrolase.**
- **AMPc : Acide Adénosine Monophosphorique cyclique**
- **Ampi-R : Ampicilline Résistant**
- **ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé**
- **ANC : Acide Nalidixique Colistine**
- **BCP : bromocrésol pourpre**
- **BHRe : bactéries hautement résistantes émergentes.**
- **BLSE : Béta Lactamases à spectre étendu**
- **CHU : Centre Hospitalier Universitaire**
- **CIT : Citrate**
- **CLSI : Clinical laboratory standard institute**
- **CMI : Concentration Minimale Inhibitrice**
- **CO2 : dioxyde de carbone**
- **CRP : Protéine C Réactive**
- **C1G : céphalosporines de 1ère génération**
- **C3G : céphalosporines de 3ème génération**
- **CTX-M : céfotaximase-Munich**
- **ECBU : examen cytobactériologique des urines**
- **ECET : Escherichia coli entérotoxinogènes**
- **E. coli: Escherichia coli**
- **ECOR : Escherichia coli Reference**
- **EHEC : Escherichia coli entérohémorragiques**
- **Etest :Epsillometer test**
- **ExPEC: Extra-intestinal pathogenic Escherichia coli**
- **g : gramme.**
- **GEL : Gélose**
- **h : heure**
- **HAS : Haute Autorité de Santé**
- **Hek : Hémagglutinine d'Escherichia coli K1**
- **H2O2 : peroxyde d'hydrogène**
- **H₂S : Sulfure d'Hydrogène**
- **I : intermédiaire**
- **IAS : Infection Associée aux Soins**
- **ibeA : invasion of brain endotheliumA**
- **ibeB: invasion of brain endothelium B**
- **ibeC: invasion of brain endothelium C**
- **Ig : Immunoglobuline**
- **IgA : Immunoglobuline A**

- **IgG** : Immunoglobuline G
- **IgM** : Immunoglobuline M
- **IMF** : Infection Materno-Fœtale
- **IN** : Infection Néonatale
- **InPEC**: Intra- intestinal pathogenic Escherichia coli
- **ISO** : Infection Site Opérateur
- **IV** : Intra Veineuse
- **j** : jour
- **KCN** : cyanure de potassium
- **KPC** : Klebsiella pneumoniae carbapénémase
- **Kg**: kilogramme
- **LCR** : Liquide Céphalo Rachidien
- **LDC** : Lysine Décarboxylase
- **LPS** : lipopolysaccharide
- **MAP** : Menace d'Accouchement Prématuro
- **MIF** : Facteur Inhibiteur de Migration
- **mg**: milligramme
- **ml** : millilitre
- **mm** : millimètre.
- **NDM** : New Delhi metallo β -lactamase
- **NT**: non testé
- **ODC** : ornithine décarboxylase
- **OmpA** : protéine de membrane externe A
- **OmpT** : protéine de membrane externe T
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **ONPG**: Ortho-nitrophényl- β -galactoside
- **OXA** : Oxacilline
- **PapGII** : pyelonephritis associated pili GII
- **pH** : potentiel hydrogène
- **PAI** : ilots de pathogénicité
- **PL** : Ponction Lombaire
- **PV** : Prélèvement Vaginal
- **R** : résistante
- **RAS** : Rien à signaler
- **RM** : réaction rouge de méthyle
- **RPM** : rupture prématurée des membranes
- **S** : sensible
- **SA** : semaine d'aménorrhée
- **S. agalactiae** : Streptococcus agalactiae
- **SGB** : Streptocoque du Groupe B
- **SHV** : sulfhydryl variable
- **TDA** : tryptophane désaminase
- **TEM** : Temoneira (nom de patient)
- **TRI** : TEM Resistant Inhibitor

- **UFC : Unité Formant Colonie**
- **VP : réaction de Voges-Proskauer**
- **TSA : Gélose Trypto-caséine soja**
- **°C : Degré Celsius.**
- **µm: micromètre.**
- **% : pourcentage.**

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 Flore vaginale de la femme.....</i>	<i>17</i>
<i>Tableau 2 Critères d'indication de la recherche d'Escherichia coli K1 (Denis. 2011).....</i>	<i>27</i>
<i>Tableau 3 Répartition des femmes enceintes selon l'âge.....</i>	<i>51</i>
<i>Tableau 4 Répartition des femmes enceintes selon l'âge gestationnel</i>	<i>52</i>
<i>Tableau 5 Répartition des femmes enceintes selon les facteurs de risques</i>	<i>52</i>
<i>Tableau 6 Fréquence de positivité des ECBUs chez les femmes enceintes</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 7 Bactériologie des ECBUs</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 8 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon l'âge des gestantes</i>	<i>54</i>
<i>Tableau 9 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon le terme de grossesse</i>	<i>54</i>
<i>Tableau 10 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon les facteurs de risque maternel</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 11 Répartition des ECBUs positifs non coli selon les facteurs de risque maternel</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 12 Etude de la relation entre les MAP et la positivité des ECBUs à E.coli</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 13 Etude de la relation entre les RPM et la positivité des ECBUs à E.coli</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 14 Prévalence globale de l'isolement d'Escherichia coli K1</i>	<i>56</i>
<i>Tableau 15 Taux d'isolement de coli K1 dans les ECBUs positifs.....</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 16 Taux d'isolement de coli K1 dans les ECBUs positifs à Escherichia coli.....</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 17 Répartition d'Escherichia coli K1 selon l'âge.</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 18 Répartition des ECBUs positifs à Escherichia coli K1 selon l'âge gestationnel</i>	<i>58</i>
<i>Tableau 19 Répartition d'Escherichia coli K1 selon les facteurs de risque maternel.</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 20 Répartition des Escherichia coli K1 et non K1 selon leurs résistances aux bêta-lactamines .</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 21 : Centre Pasteur du Cameroun, 2008 N=5955</i>	<i>64</i>
<i>Tableau 22 Lecture de la galerie API 20 E(lecture et interprétation : galerie Api 20E).....</i>	<i>9</i>

Liste des figures

Figure 1 Une souche d'E.coli de laboratoire	3
Figure 2 Une souche entéropathogène d'Escherichia coli qui produit des pili ressemblant à des cheveux. 4	4
Figure 3 Aspect classique des colonies d'E.coli sur gélose ordinaire (Milieu TS).....	5
Figure 4 Milieu chromogène pour E.CBU : Colonies roses (β -Galactosidase+).....	5
Figure 5 Gélose Hektoen: Colonies lactose +	6
Figure 6 Escherichia coli sur gélose Mac Conkey	6
Figure 7 Culture d'Escherichia coli sur gélose Chocolat + polyvitex 24h à 37°C	7
Figure 8 E. coli produisant CTX-M.....	13
Figure 9 Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens	14
Figure 10 Émergence et propagation de souches résistantes.	14
Figure 11 Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques 1- modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière ; 2- production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ; 3- imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines chez les bacilles à Gram négatif; 4- efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes.	16
Figure 12 La flore vaginale normale (Identification bactérienne).....	19
Figure 13 Modes de contamination de l'infection néonatale(Infections du nouveau-né : mode de contamination par RAMBAUD.P).	25
Figure 14 Profil bactériologique du nouveau-né prématuré	26
Figure 15 Matériel Medilab pour prélèvement vaginal[77].....	28
Figure 16 Tubage gastrique d'un nouveau-né[79]	29
Figure 17 : Colonies d'Escherichia coli sur gélose au sang frais (Mc Conkey)[82].....	30
Figure 18 Ponction lombaire du nouveau-né (BABY STAP Mode d'emploi).....	31
Figure 19 Coloration de Gram d'Escherichia coli (Identification bactérienne)	31
Figure 20 E.CBU au sein du laboratoire[83].....	32
Figure 21 Dénombrement de microorganismes urinaires	33
Figure 22 Schéma de technique[84].....	33
Figure 23 Ensemencement d'urine sur les géloses[84]	34
Figure 24 Lame de Malassez en verre[86]	34
Figure 25 Schéma explicatif de la cellule de Malassez[86]	35
Figure 26 Examen après coloration (x1000)[87].....	35
Figure 27 Technique pour préparer une hémoculture.....	36
Figure 28 Détermination des colonies bactériennes d'E.coli (Recherche et identification d'E. coli).....	36
Figure 29 Escherichia coli après la coloration de Gram[90]	37
Figure 30 Identification biochimique d'E.coli[90]	38
Figure 31 identification bactérienne via la galerie Api 20E[91].....	39
Figure 32 L'aspect de la galerie contenant E.coli (lecture et interprétation : galerie Api 20E)	39
Figure 33 Test d'agglutination(Trousse de détection d'antigènes bactériens Wellcogen.2014).....	39
Figure 34 Lecture d'un antibiogramme (Réalisation de l'antibiogramme)	40
Figure 35 Détermination de la CMI et la CMB par macrométhode en milieu liquide.[94].....	41
Figure 36 E-test (Epsillometer Test[95].....	42
Figure 37 Antibiogramme automatisé VITEK-2[82].....	43
Figure 38 Taux de positivité des ECBUs (étude faite par Pr S.OUKID à l'unité Hassiba Ben Bouali, N=71)	60

<i>Figure 39 Bactériologie des ECBUs chez les femmes enceintes, étude faite par Pr. Oukid à l'unité Hassiba Ben Bouali, N=208[106]</i>	61
<i>Figure 40 Bactériologie des ECBUs chez les femmes enceintes, étude française faite par Emmanuelle ROUX en 2015 N=108. [107]</i>	61
<i>Figure 41 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon le terme de grossesse, étude faite en France par E. Roux en 2015, N=108.</i>	62
<i>Figure 42 Répartition des femmes enceintes selon les facteurs de risque (étude faite par Pr S.OUKID à l'unité Hassiba Ben Bouali de la wilaya de Blida en 2015, N=212[106]</i>	63
<i>Figure 43 Ensemencement de la galerie API 20E</i>	8
<i>Figure 44 Recherche et identification d'E.coli K1 chez les femmes enceintes [106]</i>	11

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR ESCHERICHIA COLI.....	2
1 Historique :	2
2 Caractères bactériologiques d'Escherichia coli :	3
2.1 Caractères morphologiques :	3
2.2 Caractères culturaux :	4
2.3 Caractères biochimiques :	7
2.4 Caractères antigéniques :	8
2.4.1 L'antigène somatique O :	8
2.4.2 L'antigène flagellaire H :	9
2.4.3 L'antigène de surface K :	9
2.4.4 L'antigène F :	10
3 Facteurs de virulence	10
3.1 Les adhésines :	10
3.2 Les invasines :	11
3.3 Les toxines :	11
3.4 Les systèmes de capture du fer :	11
3.5 Les protectines :	12
4 Sensibilité aux antibiotiques	12
4.1 Généralités sur les antibiotiques :	12
4.2 La résistance aux antibiotiques :	13
4.3 Les mécanismes de résistance aux antibiotiques :	15
CHAPITRE 2 : POUVOIR PATHOGENE D'ESCHERICHIA COLI K1	17
1 Portage vaginal d'Escherichia coli K1	17
1.1 La composition de la flore normale cervico-vaginale	17
1.1.1 La formation de la flore vaginale	18
1.1.2 Les bactéries de la flore vaginale normale	18
1.1.3 L'importance de l'équilibre de la flore vaginale	19
1.1.4 Les éléments perturbateurs de la flore vaginale	20
2 Escherichia coli dans les infections urinaires basses	21
3 Escherichia coli dans les infections néonatales	21
3.1 Définition de l'infection néonatale	21
3.1.1 Infections mterno-foetales	22
3.1.1.1 Septicemie	22
3.1.1.2 Méningites	23
3.1.2 Infections associées aux soins	23
3.1.3 Infection post natales	23
3.2 Epidémiologie des infections néonatales	23

3.2.1	Facteurs de risque.....	23
3.2.1.1	Prématurité spontanée	23
3.2.1.2	Rupture prématurée des membranes.....	24
3.2.1.3	La chorioamniotite	24
3.2.1.4	L'immuno-incompétence néonatale	24
3.2.2	Mode de contamination	25
3.2.2.1	Voie hématogène placentaire.....	25
3.2.2.2	Voie ascendante.....	25
3.2.2.3	Contamination au passage dans la filière génitale	25
3.2.3	Prévalence des infections néonatales à <i>Escherichia coli</i> K1	25

CHAPITRE 3 : ROLE DU LABORATOIRE DANS LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NEONATALES A 'ESCHERICHIA COLI K126

1	Indication de la recherche d'<i>Escherichia coli</i> K1.....	26
2	Prélèvements à réaliser pour la surveillance du portage vaginal d'<i>Escherichia coli</i> K1 au cours de la grossesse	28
2.1	Prélèvement vaginal.....	28
2.2	Prélèvement d'urine pour examen cytot bactériologique des urines	28
3	Prélèvements à réaliser chez le nouveau-né en cas de suspicion d'infections néonatales	28
3.1	Tubage gastrique	29
3.2	Méconium.....	29
3.3	Autres prélèvements : Hémocultures, LCR.....	29
3.3.1	Hémoculture.....	29
3.3.2	LCR	30
4	Techniques de recherche d'<i>Escherichia coli</i> K1 au laboratoire de bactériologie	31
4.1	Mise en culture des prélèvements vaginaux et des prélèvements du nouveau né :.....	31
4.1.1	Prélèvements vaginaux	31
4.1.2	Prélèvements du nouveau-né	31
4.2	Techniques usuelles de l'étude bactériologique de l'urine, LCR et l'hémoculture :.....	32
4.2.1	L'urine	32
4.2.2	LCR	34
4.2.3	Hémoculture.....	35
4.3	Identification d'espèce.....	36
4.3.1	Identification classique	36
4.3.1.1	Identification macroscopique	36
4.3.1.2	Identification microscopique	37
4.3.1.3	Identification biochimique.....	38
4.3.2	Identification par galerie API 20E	38
5	Détermination de l'antigène K1	39

CHAPITRE 4 : ETUDE DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.....40

1	Méthode d'étude de sensibilité aux antibiotiques	40
1.1	L'antibiogramme	40

1.2	Méthode de dilution	40
1.3	Technique en milieu gélosé : le Etest (Epsilometer test)	41
1.4	Antibiogramme automatisé.....	42
 CHAPITRE 5 : LES MOYENS DE LUTTE CONTRE LES INFECTIONS NEONATALES A ESCHERICHIA COLI K1		43
1	Antibioprophylaxie chez la femme enceinte.....	43
1.1	Antibiothérapie au cours des situations à risque infectieux	44
1.1.1	Menace d'accouchement prématuré (MAP)	44
1.1.2	Chorioamniotite.....	44
1.1.3	Rupture prématurée des membranes (RPM).....	44
1.1.3.1	RPM avant 37 SA	44
1.1.3.2	RPM après 37 SA	45
1.2	Antibiothérapie maternelle et infection à Escherichia coli résistant à l'Ampicilline chez le nouveau-né.....	45
2	Prise en charge thérapeutique de nouveau né	45
2.1	L'antibiothérapie probabiliste	46
2.2	Adaptation de l'antibiothérapie	46
 CHAPITRE 6 : OBJECTIFS		47
1	Objectif principal	47
2	Objectifs secondaires	47
 CHAPITRE 7 : MATERIELS ET METHODES		47
1	Matériel	47
1.1	Population d'étude	47
1.1.1	Critères d'inclusion	47
1.1.2	Critère d'exclusion	47
1.1.3	Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU)	47
1.1.4	Prélèvement vaginal	49
1.1.5	Souche à isoler.....	49
1.2	Etude bactériologique	49
1.2.1	Mise en culture	49
1.2.2	Identification	49
1.2.3	Antibiogramme.....	49
2	Méthode	49
2.1	Type et période d'étude	49
2.2	Lieu d'étude	50
2.3	Collecte des données	50
2.4	Traitement des données	50
 CHAPITRE 8 : RESULTATS ET DISCUSSION.....		51

1	Resultats :	51
1.1	Description de la population	51
1.1.1	Répartition des gestantes selon l'âge	51
1.1.2	Répartition des gestantes selon le terme de grossesse	51
1.1.3	Répartition des gestantes selon les facteurs de risques maternels	52
1.2	Taux de positivité des ECBUs chez les femmes enceintes	53
1.2.1	Bactériologie des ECBUs.....	53
1.2.1.1	Répartition des ECBUs positifs à <i>Escherichia coli</i> selon l'âge	53
1.2.1.2	Répartition des ECBUs positifs à <i>Escherichia coli</i> selon le terme de grossesse des gestantes	54
1.2.1.3	Répartition des ECBUs positifs à <i>Escherichia coli</i> selon les facteurs de risques maternels	54
1.2.1.4	Etude de la relation entre les facteurs de risques (RPM/MAP) et la positivité des ECBUs à <i>Escherichia coli</i>	55
1.3	Fréquence d'isolement d' <i>Escherichia coli K1</i>	56
1.3.1	Fréquence d'isolement de l' <i>Escherichia coli K1</i> dans les ECBUs positifs	56
1.3.2	Taux d'isolement d' <i>Escherichia coli K1</i> dans les ECBUs positifs à <i>Escherichia coli</i>	57
1.3.3	Répartition des ECBUs positif à <i>Escherichia coli K1</i> selon L'âge.....	57
1.3.4	Répartition des ECBUs positifs à <i>Escherichia coli K1</i> selon le terme de grossesse	58
1.3.5	Répartition des ECBUs positifs à <i>Escherichia coli K1</i> selon les facteurs de risques maternels	58
1.3.6	Résistance d' <i>Escherichia coli K1</i> aux béta-lactamines	59
2	Discussion	60
	CONCLUSION GENERALE	0

Introduction générale

L'infection bactérienne demeure une cause de morbidité et de mortalité néonatales malgré les progrès de la médecine[1]. Annuellement, sur 130 millions de nouveau-nés dans le monde, 4 millions en décèdent durant les 4 premières semaines de leur vie et 99 % d'entre eux meurent dans les pays en voie de développement[2].

La résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème de santé publique. Le développement de cette résistance se fait d'une part, par des mécanismes biochimiques en réponse à la pression de sélection exercée par les antibiotiques [3]. D'autre part, elle est due à une épidémiologie particulière des gènes liée aux différents supports possibles : chromosomes, plasmides ou transposons.[4]. Parmi les résistances qui évoluent considérablement, on retrouve la production de BLSE par les *Escherichia coli*, ce qui influence l'évaluation et limite le traitement des infections communautaires et associées aux soins[5]

Escherichia coli est une bactérie isolée fréquemment en maternité soit à partir de prélèvements vaginaux effectués au 3^{ème} trimestre de grossesse, soit à partir de prélèvements périphériques de nouveau-nés[6]. La colonisation vaginale d'*E.coli* peut être un facteur de risque de complications durant la grossesse, surtout si les souches présentent des facteurs de virulence[7]. Parmi les nombreux sérotypes capsulaires d'*E.coli*, les souches de sérotype capsulaire K1 se montrent plus virulentes, provoquant une infection chez le nouveau-né. En effet, ce sérotype est responsable de 60 à 85% des méningites néonatales à *E.coli* [8]. Dès lors, il est judicieux d'étudier l'antibiorésistance associée aux *E.coli* K1[9], afin de prévenir la gravité de l'infection et le risque néonatal [10].

Alors, quelles sont les étapes à suivre afin de réaliser une étude sur l'antibiorésistance de cette bactérie à Haut Risque Néonatal? Et comment adapter le traitement afin d'optimiser l'effet thérapeutique?

L'objectif de ce travail de thèse s'intègre dans l'axe « Antibiorésistance des souches *E. coli* K1 chez les femmes enceintes » et s'intéresse particulièrement à la résistance du sérotype K1 dans les infections materno-fœtales au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Hassiba Ben Bouali à Blida.

Ce travail est encadré par Pr. Oukid Samira. Nous entamerons avec les caractéristiques générales d'*Escherichia coli*, puis son pouvoir pathogène, le rôle du laboratoire dans l'étude de l'antibiorésistance de la souche *E.coli* K1, et enfin les moyens de lutte contre les infections materno-fœtales causées par cette bactérie.

Chapitre 1 : Généralités sur *Escherichia coli*

1 Historique :

Escherichia coli est l'une des bactéries les plus étudiées étant un organisme bien connu en plus d'être une source très appréciée pour la production de protéines recombinantes à grande échelle [11]. Des travaux considérables en génétique et biologie moléculaire ont été entrepris sur une même souche d'*Escherichia coli* et les résultats ont souvent été extrapolés un peu abusivement sur la totalité des entérobactéries [12]

Cette espèce est connue depuis la fin du XIXe siècle. [13] Elle représente l'espèce prédominante de la flore aérobie-anaérobie facultative à des quantités de 10^6 - 10^9 /g de selles chez l'homme [14].

E. coli fait maintenant partie de la famille des Enterobacteriaceae. Isolée pour la première fois en 1885 par le bactériologiste Theodor Escherich, à partir de fèces d'enfants [15]. Le pédiatre germano-autrichien a utilisé ses propres méthodes de culture anaérobie, puis la nouvelle technique de coloration de Hans Christian Gram [16]. *E. coli* est un bacille gram négatif anaérobie facultatif. Escherich l'a nommée d'abord *Bacterium coli commune*. Puis, en 1919 Castellani et Chalmers ont proposé le nom de *E. coli* mais c'est jusqu'à 1958 que cette dénomination a été officiellement reconnue. Escherich a appelé à l'origine le bacille du côlon commun *Bacterium coli commune*. Castellani et Chalmers ont proposé le nom *E. coli* en 1919, mais il n'a été officiellement reconnu qu'en 1958 [17]

Avec l'avènement de la bactériologie moléculaire et du séquençage génomique, *E. coli* a attiré tous les regards des chercheurs. [18]. Ainsi, *E. coli* a été le modèle choisi dans 11 prix Nobel. Le prix Nobel Jacques Monod (1965) qui élucida chez elle la propriété de réguler l'expression des gènes [19].

La combinaison des antigènes de surface (flagellaires et capsulaires) déterminent environ 700 000 *E. coli* différentes. La majorité des souches appartiennent à la flore commensale digestive, cependant, d'autres peuvent acquérir des facteurs de virulences spécifiques qui donneront des pathologies [20]. Les maladies touchent les humains et les animaux provoquant une infection des voies urinaires (IVU, évoluant parfois vers un syndrome hémolytique et urémique ou SHU), infection du sang et du système nerveux central (septicémie / méningite) et infection gastro-entérique [21].

Les souches d'*E.coli* sont classées en groupes appelés pathotypes selon le site et le type d'infection. Les groupes comprennent les *E. coli* entéroagrégués, entérohémorragiques (EHEC), entérotoxigènes, entérotoxino-gènes, uropathogènes, associées à la méningite et septicémiques [22].

La plus connue des souches est l'*E. coli* O157: H7 entérohémorragique qui produit la shiga toxine [23]. On constate récemment une augmentation de la densité d'incidence des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE), liée à l'émergence d'*Escherichia coli* BLSE[24].

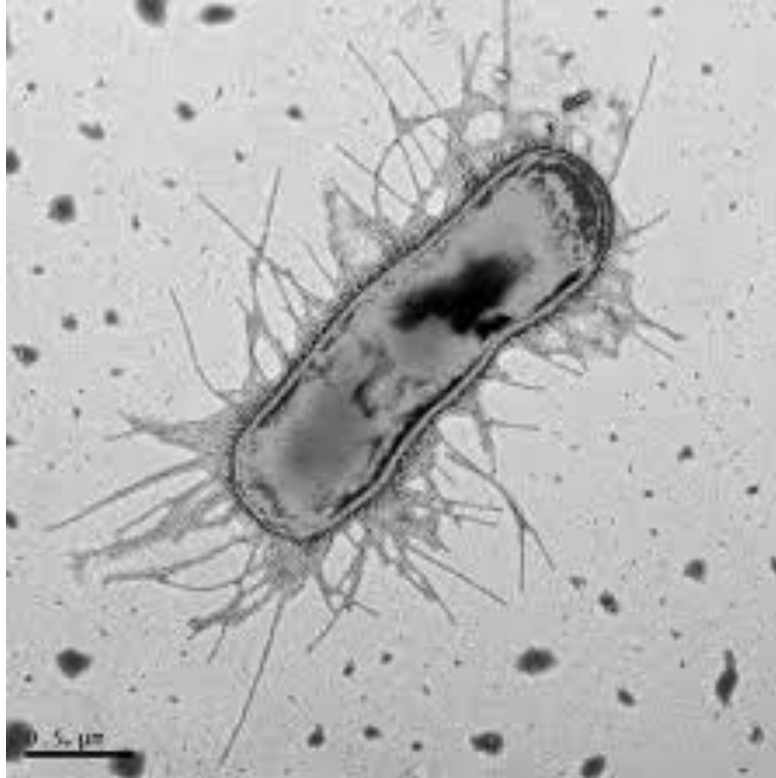
2 Caractères bactériologiques d'*Escherichia coli* :

2.1 Caractères morphologiques :

Escherichia coli est un bacille mesurant quelques microns de long et 0,5 mm de large, les bactéries en croissance rapide étant plus allongées que les bactéries quiescentes (0,5-3µm)[21]. A fort grossissement, elle ressemble à un bâtonnet. (figure 1). Elle possède des flagelles en forme de fouet qu'elle utilise pour se déplacer dans son environnement, ou des pili en forme de cheveux afin de se fixer à des surfaces ou à d'autres cellules. [25]. *E.coli* est non sporulée, environ 70% des souches sont mobiles à 37°C, avec une ciliature péritriche, sans capsule, mais certaines souches peuvent exceptionnellement en posséder une. (capsule *K1*) [12].



Une souche d'*E.coli* de laboratoire avec une morphologie typique en forme de bâtonnet. (Crédit photo: Brian Wade)



Une souche entéropathogène d'Escherichia coli qui produit des pili ressemblant à des cheveux.

2.2 Caractères cultureux :

E.coli est un germe aéro-anaérobie facultatif, sa culture est facile sur milieux ordinaires et lactosés. Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Les entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski poussent sur les milieux sélectifs. [12]. Sa température de croissance optimale est de 37°C. [26]

- En bouillon liquide, *E.coli* donne un trouble homogène après 8 à 24 heures d'incubation.
- Sur gélose nutritive, les colonies apparaissent après 12 à 18 heures d'incubation, elles sont rondes, lisses, à bords réguliers, de 1 à 3 mm de diamètre, non pigmentées, facilement émulsionnées.
- Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif.
- Sur gélose au sang, certaines souches peuvent être bêta hémolytiques. [27]

Certaines souches déficientes en thymidine donnent des colonies naines, tandis que d'autres se cultivent exceptionnellement sous forme de colonies muqueuses [28](Figure 4).

Les figures ci-dessous montrent l'aspect des colonies d'*Escherichia coli* sur différents milieux de culture :

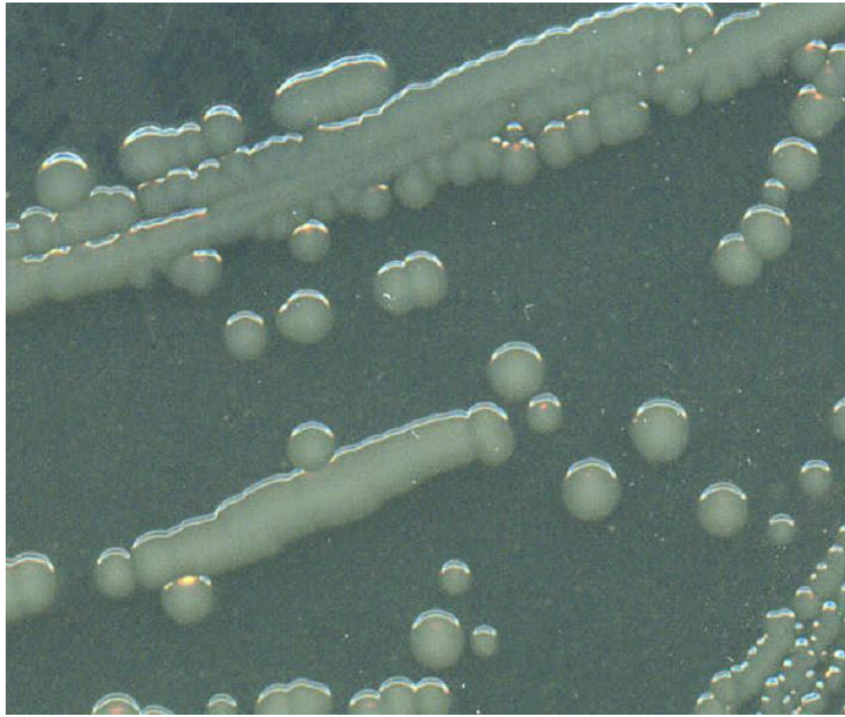


Figure 3 Aspect classique des colonies d'*E.coli* sur gélose ordinaire (Milieu TS)



Figure 4 Milieu chromogène pour E.C.B.U. : Colonies roses (β -Galactosidase+)

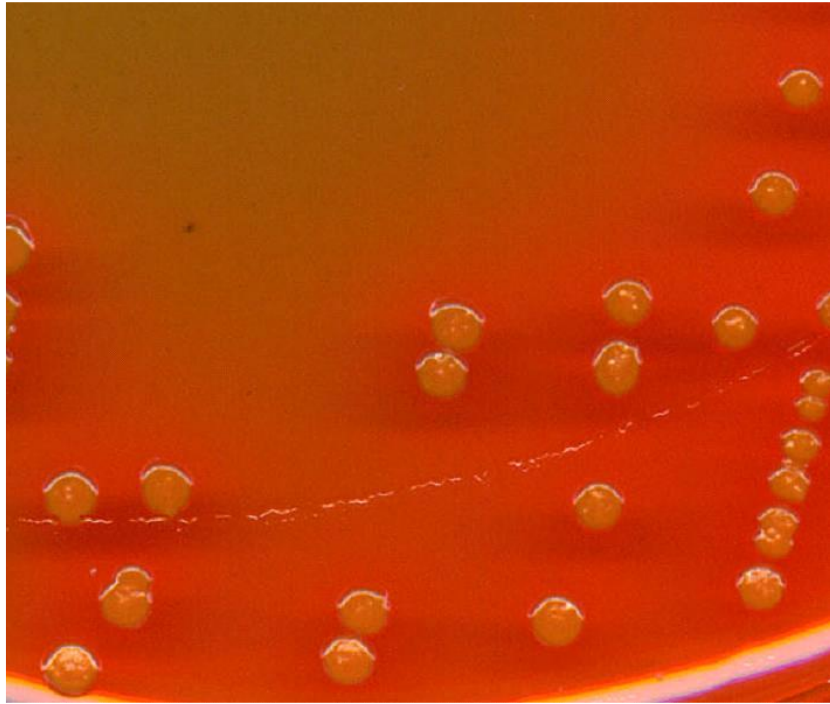


Figure 5 Gélose Hektoen: Colonies lactose +



Figure 6 Escherichia coli sur gélose Mac Conkey



Figure 7 Culture d'*Escherichia coli* sur gélose Chocolat + polyvitex 24h à 37°C

2.3 Caractères biochimiques :

Escherichia coli possède les caractères biochimiques suivants :

- Elle est catalase +
- Oxydase –
- Nitrate reductase +.
- Elle fermente le glucose, le lactose, le saccharose, et le maltose en produisant un gaz.
- Citrate de Simmons -
- Acidification du mannitol (mannitol +)
- Production d'indole (Indole +)
- La réaction de VogesProskauer est négative (VP -)
- Elle fermente les sucres via la voie des acides mixtes soit la réaction du Rouge de Méthyl est positive (RM +)
- L'hydrolyse de l'ONPG est positive (ONPG +), il n'y a pas de production de H₂S (-), et la réaction de l'urée est négative (Urée -)
- Elle possède une ODC et une LDC.,
- Elle est dépourvue de phénylalanine-désaminase, de gélatinase, et n'utilise pas le malonate.

- Enfin, elle est KCN, adonitol et inositol négative. [12]

Le tableau suivant résume les activités enzymatiques et la fermentation des sucres à partir de galeries d'identifications validées. Ces dernières permettent également de faire le diagnostic différentiel entre *Escherichia coli* et les autres Entérobactéries.

Test	GLU	LAC	MAL	H ₂ S	GAZ	CS	ONPG	GEL	NIT	LDC	ODC	ADH	UREE	TDA	IND	RM	VP	ESC
Résultat	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+	-	-

Légende :

+ : caractère positif

- : caractère négatif

+/- : caractère inconstant.[29]

Seulement, les caractères peuvent être erronés ou aberrants : 4% des souches sont Indole – et ce dû à une mutation. Aussi, les plasmides sont capables de coder certains caractères tels que la production d'H₂S. Notons aussi que les *E.coli* entéro-hémorragiques de sérotype O157 : H7 sont sorbitol – contrairement aux autres souches[12]

2.4 Caractères antigéniques :

E.coli possède quatre types d'antigènes qu'on va détailler :

L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à coloration de gram négative. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène de surface K est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O et donc le sérogroupage lorsqu'il est présent. L'identification des antigènes et sérogroupes a permis de différencier des souches pathogènes des souches commensales. En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des maladies tandis que d'autres le sont très fréquemment. [30]

2.4.1 L'antigène somatique O :

Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS permettent à la bactérie de se protéger

contre l'action lytique du complément, la fixation des anticorps et la phagocytose. Sa structure a plus de 190 variétés antigéniques [12]. Cet antigène somatique est identifié par des immuno-sérums spécifiques en formant lentement des agglutinats granulaires et difficilement dissociables par agitation [12]. Cette propriété permet de classer par sérologie les différentes souches d'*Escherichia coli* dans les groupes O [28]. La synthèse de l'antigène O peut être interrompue en culture par le passage des colonies *E. coli* du type S (smooth, lisse) au type R (rough, rugueux) n'exprimant plus l'antigène O. Son absence empêche le sérotypage via les méthodes classiques, cependant le typage génétique reste possible. Les gènes codants pour les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le << Cluster de gène rfb >> [31]. L'amplification puis la restriction par l'endonucléase MbolI permet l'obtention de profils permettant l'identification du séro groupe des souches R. Le séro groupe identifié sera noté par exemple R157 par analogie au séro groupe identique O157 obtenu par agglutination. En outre, ce type d'identification permet une caractérisation plus fine des souches par rapport au séro groupage classique [32].

2.4.2 L'antigène flagellaire H :

De nature protéique, il entre en jeu dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie [33]. La diversité des antigènes H tient à la variabilité des sous-unités de flagellines qui constituent le flagelle. Ces antigènes sont variables entre les espèces et même au sein d'une même espèce parfois, contribuant de ce fait à la définition du sérovar. Le typage est réalisé par séroagglutination mais n'est effectué que par de rares laboratoires spécialisés [30].

2.4.3 L'antigène de surface K :

L'antigène K entoure la paroi de *E. coli* et peut masquer l'antigène O [34]. Il est de nature polysaccharidique et est inégalement réparti dans l'espèce. Certains antigènes K constituent une véritable capsule semblable à celle des *Klebsiella* [35]. Le polysaccharide capsulaire K1 est une virulence majeure prendre en compte les souches d'*E. coli* responsables de la méningite nouveau-né [36]. C'est aussi, cependant, trouvé dans les souches UPEC, en particulier celles isolées des enfants atteints de pyélonéphrite. Le polysaccharide capsulaire K1 est un polymère linéaire lié α -2,8-1 de environ 200 résidus d'acide sialique (NeuNAc), se terminant à leurs extrémités réductrices par estérification en phosphatidique acide, une modification qui ancre vraisemblablement ces chaînes à la membrane externe, conférant ainsi une charge de surface négative nette élevée [37].

Il existe 3 types de l'antigène K désignés par les lettres L, A ou B.

- L'antigène L : plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique.
- L'antigène A : rare. C'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulées sont relativement fréquentes dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- L'antigène B : polysaccharide non séparable de l'antigène O [38]. Sa thermolabilité devient intermédiaire à 100°C pendant plus de 30 minutes. L'antigène persiste mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum à cause du « trouage » de l'enveloppe. La fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique décroît progressivement (proportionnellement avec la durée de chauffage)[39].

2.4.4 L'antigène F :

Cet antigène est de nature protéique, thermolabile qui n'a aucune importance dans la classification antigénique d'*Escherichia coli* [27]

3 Facteurs de virulence

Escherichia coli est la seule espèce dans le monde bactérien qui se distingue par la diversité de son comportement pathogénique. Il existe une remarquable variété de pathotypes, responsables d'infections intestinales (InPEC) ou extra-intestinales (ExPEC) [40].

Par exemple : les souches EHEC pourraient avoir acquis la majorité de leurs facteurs de virulence par transfert horizontal de matériel génétique.

Cette virulence est due essentiellement à la plasticité dans son génome qui lui a permis d'intégrer des gènes regroupés dans « des îlots de pathogénicité » (PAI) ou portés sur des plasmides dont le produit est impliqué dans le pouvoir pathogène de la bactérie sur l'hôte. Ces facteurs sont classés en cinq catégories selon leur rôle biologique[14].

3.1 Les adhésines :

Les adhésines sont des protéines fixées à la surface du corps bactérien dont la structure stéréochimique leur permet de reconnaître des récepteurs, souvent constitués de sucres antigéniques, présents à la surface des cellules hôtes[14]. Ce sont des facteurs de virulence importants car ils permettent aux bactéries uropathogènes de se fixer et de coloniser un appareil urogénital humain en créant une réponse immunitaire [41]. Certaines adhésines permettent aux souches d'adhérer aux entérocytes de l'intestin afin d'y maintenir et de persister dans le tube digestif [28], tels que : le pilus de type IV ; l'intimine ; adhésine AAF (aggrégative adherence factor) [42].

3.2 Les invasines :

Les invasines sont des structures protéiques variées qui permettent l'internalisation de la bactérie dans les cellules pour traverser la barrière épithéliale et/ou endothéliale par transcytose. Elles sont impliquées soit, dans la translocation digestive (protéine Hek) « Hémagglutinine de *E.coli* K1 », soit dans l'invasion de la barrière hémato-méningée en se fixant aux récepteurs spécifiques présents à la surface des cellules endothéliales cérébrales (les protéines de surface *ibeA*, *ibeB* et *ibeC*, ainsi que la protéine de membrane externe *OmpA*) [14].

3.3 Les toxines :

On appelle toxine, tout type de protéine capable de provoquer une altération de la forme et de la fonction des cellules de l'hôte. Deux types de toxines sont majoritairement retrouvées chez les *Escherichia coli* uropathogènes : A hémolysine et le Facteur Cytotoxique Nécrosant (CNF1) [43].

Certaines d'entre-elles contribuent à la fragilisation de l'épithélium rénal (l'hémolysine α ; la toxine Sat), favorisant ainsi le passage d'*E.coli* des urines dans le sang ; puis du sang dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) [14]. Et d'autres jouent un rôle déterminant dans la virulence digestive comme les entérotoxines produites par les *E.coli* entérotoxigènes (ECET) et la shiga-like libérée par les *E.coli* entérohémorragiques (EHEC) [42].

3.4 Les systèmes de capture du fer :

Ce sont l'ensemble des molécules qui permettent à la bactérie de capturer des quantités suffisantes en fer, nécessaires au maintien de ses fonctions métaboliques, qui est retrouvé sous forme ion ferrique Fe^{+3} complexés aux ions citrates (le système *fec*) ou liés à l'hème des hémoglobines (le système *chu*) [14]. La capacité à acquérir le fer est essentielle pour toutes les bactéries pathogènes, dont *E.coli* [37]. Le fer est indispensable pour le transport et le stockage de l'oxygène, la synthèse de l'ADN, et le transport des électrons. *E.coli* sécrète également des molécules appelées « les sidérophores » qui sont capables de soustraire les ions Fe^{+3} aux transporteurs physiologiques et de les acheminer à la bactérie via un récepteur spécifique. Les plus fréquemment rencontrées sont : l'entérobactine (récepteur *FepA*) ; l'aérobactine (récepteur *IutA*) ; la yersiniabactine (récepteur *Fyu A*), la salmocheline (récepteur *IroN*) [14]. Ces sidérophores lui offrent l'avantage de pouvoir croître dans un environnement de faible teneur en fer .

3.5 Les protectines :

Représentent l'ensemble des facteurs qui assurent la protection de la bactérie contre le système immunitaire de l'hôte. Particulièrement contre le complément sérique, la phagocytose par les cellules de la lignée macrophagique ; et les polynucléaires neutrophiles. Et ce, soit en formant une barrière stérique de nature glucidique (Ag k, Ag O) qui empêche la fixation du complexe d'attaque membranaire du complément sérique, soit en intervenant sous forme de protéines de surface (Iss, OmpA) qui protège la bactérie contre l'action du complément sérique. Il existe même d'autres structures (OmpT) destinées contre les peptides antibactériens (défensines par exemple) [14].

4 Sensibilité aux antibiotiques

4.1 Généralités sur les antibiotiques :

L'antibiothérapie a complètement révolutionné le domaine médical à partir des années 1940, entraînant une réduction significative de la mortalité associée aux maladies infectieuses. Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques traditionnels a constitué un problème de santé mondial. La première résistance qui concerne la pénicilline s'est développée aux années 1950. Puis apparut la résistance aux C1G (1970) et aux C3G (1990). De nos jours la fréquence des infections par les bactéries résistantes a augmenté autant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire[44]. *Escherichia coli* est une bactérie majoritairement sensible aux antibiotiques suivants : les sulfamides, triméthoprimes, tétracyclines, chloramphénicol et aminosides[27]. Sa souche sauvage présente une résistance naturelle aux macrolides et aux glycopeptides[45], mais reste sensible aux β -lactamines malgré l'existence à l'état naturel d'un gène capable de produire une céphalosporinase [19].

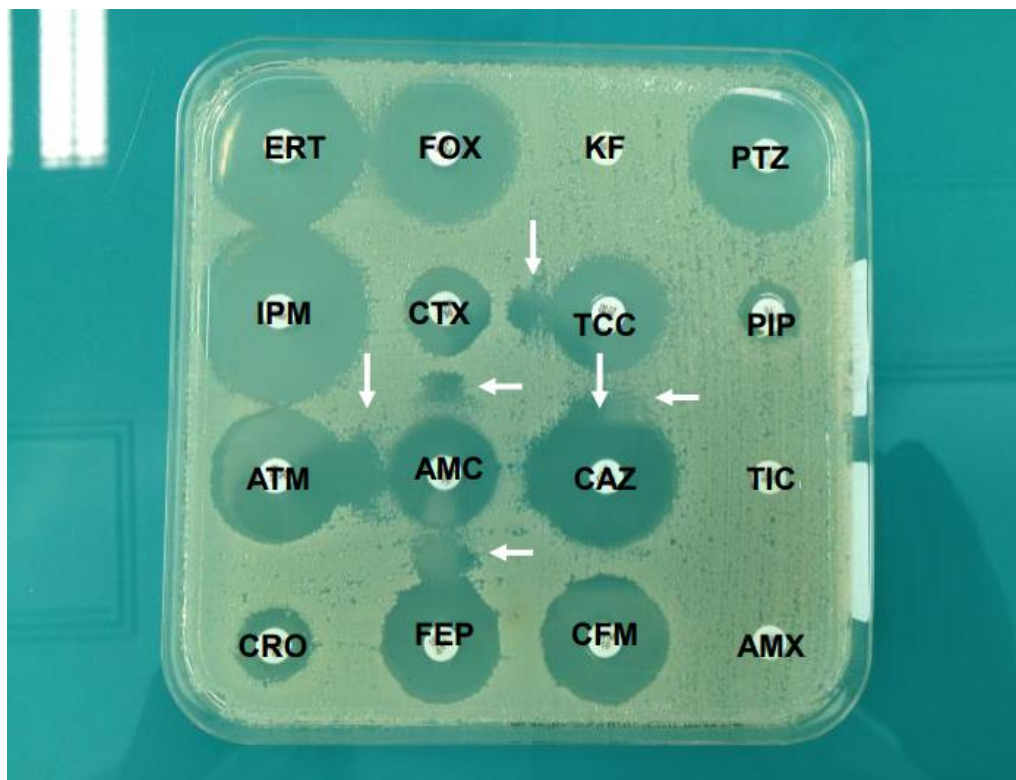
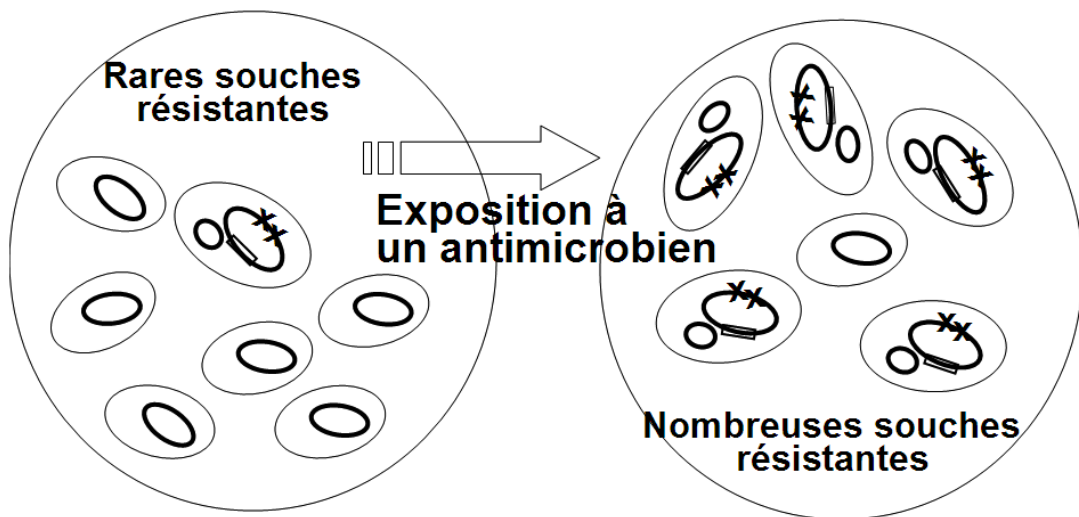


Figure 8 *E. coli* produisant CTX-M

4.2 La résistance aux antibiotiques :

La pression sélective de l'utilisation, de la surutilisation et du mauvais usage des antibiotiques a entraîné cette augmentation progressive de résistance. Les bactéries autrefois traitables sont désormais incurables ou nécessitent la dernière ligne d'antibiotiques [46]. Les souches Multirésistantes d'*Escherichia coli* (MDR), celles extrêmement résistantes aux médicaments (XDR) ainsi que les *E. coli* pan-résistantes (PDR) sont devenus un problème mondial critique [47]. Le transfert horizontal de gènes interspécifiques et intra-espèces est suspecté d'être le processus dominant pour s'octroyer des bactéries multirésistantes, à la fois en milieu communautaire et hospitalier [46]. Par conséquent, l'émergence des souches *d'E. coli* ExPEC MDR, telles que la souche (ST) O25b: clone ST131, représente un défi majeur pour la prévention et la prise en charge des infections à *E. coli* [48]. Des données de suivi des années 2000 indiquent que la résistance à toutes les classes d'antibiotiques existe parmi les souches d'*E. coli*. Ceci inclut la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (y compris TEM, SHV, CMY et Types CTX-M), la production de carbapénémases (y compris KPC, NDM, VIM, Types OXA-48 et IMP), la résistance aux fluoroquinolones, aux aminosides et triméthoprime-sulfaméthoxazole [49], et dernièrement, on a découvert une résistance à la colistine par médiation par un plasmide [50]. La diffusion rapide des *E. coli* des clones ExPEC néo-résistants produit des flambées localisées de maladies extra-intestinales. Actuellement, les CTX-M-15 et les BLSE sont les plus répandus parmi les ExPEC [48]. De plus, l'augmentation d'*E. coli* ST131, qui est souvent résistante aux céphalosporines à spectre étendu et aux fluoroquinolones (FQ), a

gravement compliqué la traitement des infections des voies urinaires et celles transmissibles par le sang aux États-Unis et dans le monde [51]. Une enquête clinique sur l'antibiorésistance a révélé que E. coli ST131 est responsable d'environ 70% des infections cliniques résistantes aux FQ et 55% des infections résistantes à la fois aux FQ et au triméthoprim-sulfaméthoxazole [51]. Les souches d'E. Coli résistantes aux antibiotiques sont de plus en plus répandues, aux États-Unis, 31,3% des isolats d'E. Coli étaient résistants à la FQ (FQ-R) parmi les patients hospitalisés, de 2007 à 2010 [52]. En Inde, la prévalence d'E. Coli MDR des isolats, parmi les patients hospitalisés avec des infections urinaires, était de 76% [53].



Traduit de la référence 11, Campagne de prévention de la résistance antimicrobienne du CDC américain.

Figure 9 Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens

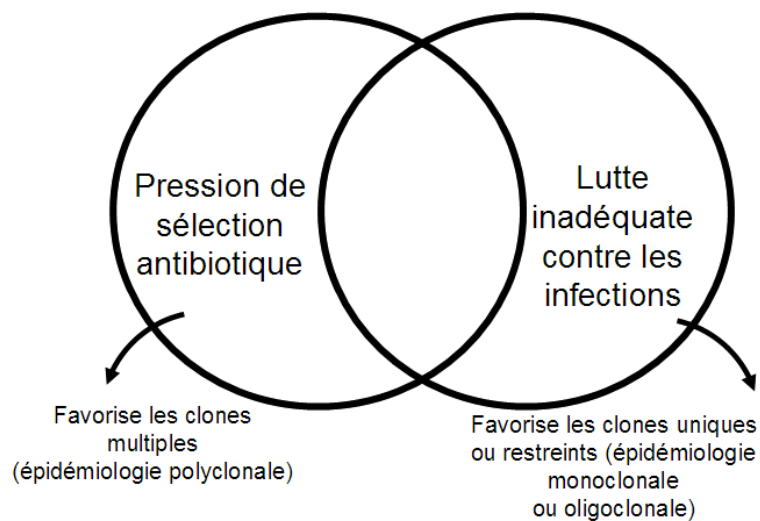


Figure 10 Émergence et propagation de souches résistantes.

4.3 Les mécanismes de résistance aux antibiotiques :

Les bactéries développent de la résistance à la suite d'une exposition aux antibiotiques.

L'antibiorésistance se propage à grande échelle selon les étapes suivantes : sélection d'organismes résistants, élimination de la flore normale sensible au médicament et colonisation avec ces micro-organismes résistants, contact d'une personne à l'autre et transmission dans l'environnement puis finalement la transmission globale. La résistance bactérienne est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extrachromosomique). Il existe deux grands types de résistance : la résistance naturelle (ou intrinsèque) , et la résistance acquise [44]

- La résistance naturelle ou intrinsèque : Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc.). Aussi, la résistance des entérobactéries et des Pseudomonas aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est intrinsèque. Ce phénomène peut être dû à l'inaccessibilité de la cible par l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale).
- La résistance acquise : elle n'est présente que chez certaines souches d'une même espèce ou d'un même genre. Des fois, elle peut concerner la grande majorité de ces souches comme, par exemple, la production de pénicillinase chez le staphylocoque qui intéresse plus de 90 % des souches [3].

Sur le plan biochimique, les bactéries ont développé quatre grands mécanismes d'acquisition de la résistance: i) la modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière ; ii) la production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ; iii) l'imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif et iv) l'efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes. Le motif commun à ces différents mécanismes de résistance est d'empêcher l'interaction de l'antibiotique avec sa cible [3].

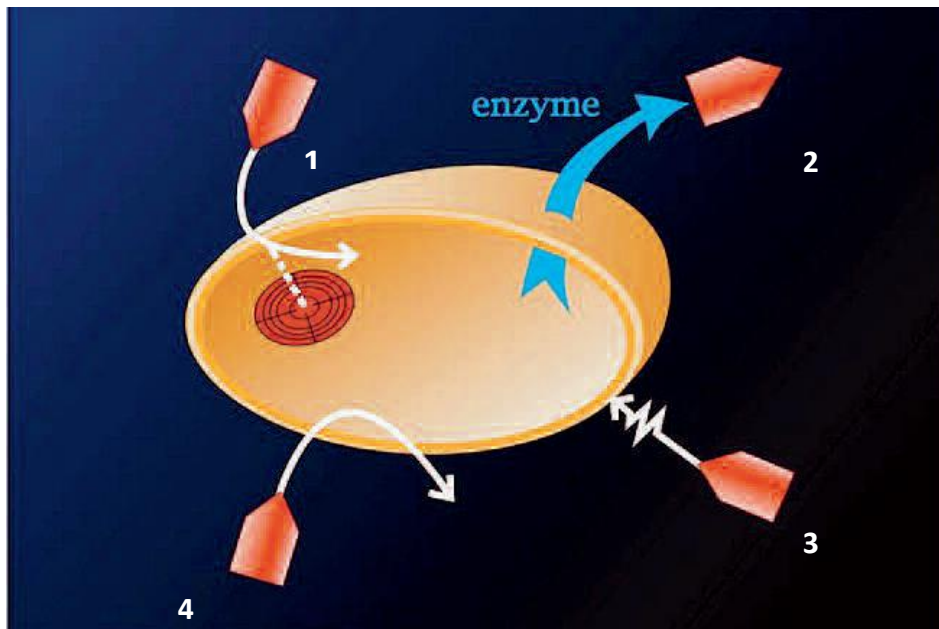


Figure 11 Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques 1- modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière ; 2- production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique ; 3- imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines chez les bacilles à Gram négatif; 4- efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes.

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes. Soit des mutations dans le génome, on parlera alors de transmission verticale à la descendance, soit l'acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal.[3]

Les capsules augmentent la virulence des E.coli par deux mécanismes. Premièrement, en permettant au pathogène la fuite de la réponse immunitaire de l'hôte par imitation des molécules de l'hôte; deuxièmement, en inhibant les activités opsonisantes du complément et en contribuant à la résistance sérique [54]

La capsule polysaccharidique d'E.coli K1 est un polymère linéaire lié α -2,8-1 d'environ 200 résidus d'acide sialique (NeuNAc), se terminant à leurs extrémités réductrices par estérification

en acide phosphatidique, une modification qui ancre vraisemblablement ces chaînes à la membrane externe, conférant ainsi une charge de surface négative élevée. Cela fournit à la bactérie une barrière anti-phagocytaire qui inhibe la voie alternative du complément. De plus, elle imite la structure moléculaire des vertébrés d'acides polysialiques, présentes sous la forme embryonnaire de la molécule d'adhésion cellulaire neurale (N-CAM), et il a été suggéré que ces similitudes entre la capsule d'*E. coli* K1 et les structures tissulaires de l'hôte peuvent expliquer sa faible immunogénicité chez l'homme [54].

Chapitre 2 : Pouvoir pathogène d'*Escherichia coli* K1

1 Portage vaginal d'*Escherichia coli* K1

1.1 La composition de la flore normale cervico-vaginale

Les microorganismes présents dans la flore vaginale sont classés en trois groupes en fonction de leur concentration [55].

Groupe	Composition
I Flore dominante (10^8 à 10^9 bact / g)	Cette flore est constituée de bactéries acidophiles, essentiellement des <i>Lactobacillus</i> (flore de Doderlein) reconnaissables facilement au GRAM dans leur morphologie classique : longs bacilles à Gram positif. De nombreuses espèces peuvent être présentes, les plus fréquentes étant : <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. iners</i> . Certaines espèces ont un aspect trompeur à la coloration de Gram (aspect fin ou coccoïde évoquant à tort des corynébactéries ou des streptocoques).
II Flore sous dominante (10^4 bact / g)	Variable d'une femme à une autre, les espèces qui la composent sont très variées : <ul style="list-style-type: none"> - <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Enterococcus</i>, streptocoques non groupables, - entérobactéries (<i>Escherichia coli</i> surtout, mais aussi <i>Proteus</i>, <i>Morganella</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i> et <i>Serratia</i> après antibiothérapies prolongées ou multiples), - <i>Staphylococcus aureus</i> et autres staphylocoques, - bactéries anaérobies (<i>Bacteroides</i>, <i>Prevotella</i>, <i>Fusobacterium</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Peptostreptococcus</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Mobiluncus</i>), - <i>Gardnerella vaginalis</i>, - <i>Atopobium vaginae</i>, - <i>Mycoplasma hominis</i>, <i>Ureaplasma spp.</i>, - <i>Candida albicans</i> (levure).
III Flore exceptionnelle (<10 bact / g)	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Haemophilus influenzae</i> et <i>para-influenzae</i>, - <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i>, - <i>Neisseria meningitidis</i>, autres <i>Neisseria</i> et <i>Moraxella</i>.

Tableau 1 Flore vaginale de la femme

La flore vaginale d'une femme en bonne santé est composée du bacille doderlein (différentes espèces de lactobacilles) formant un biofilm sur la muqueuse. Ces bactéries ont un effet bénéfique en inhibant la croissance, l'adhérence ou la propagation d'autres micro-organismes. Différents mécanismes sont reconnus, y compris la sécrétion d'acides organiques, la production de substances antimicrobiennes (peroxyde d'hydrogène, bactériocines et biosurfactants), la concurrence pour les nutriments (arginine déiminase), la concurrence pour les récepteurs

(adhérence sur l'épithélium), l'exclusion stérique (biosurfactants, adhésion à l'épithélium ou sur la fibronectine) et la coagrégation [55].

1.1.1 La formation de la flore vaginale

- À la naissance : la persistance chez la fillette des œstrogènes transmis par la mère en période fœtale explique que cette flore soit presque exclusivement composée de lactobacilles.

- De la naissance à la puberté : après disparition des œstrogènes d'origine maternelle, le taux d'hormones reste faible et le pH vaginal plus élevé. La flore est alors variée et équilibrée bien qu'assez peu abondante (entérobactéries, entérocoques, bactéries anaérobies, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, staphylocoques..).

- Chez la femme pubère non ménopausée : cette période se caractérise par une forte production d'œstrogènes et un pH vaginal bas. La flore est de nouveau dominée par les lactobacilles, sauf parfois après les règles où un certain polymorphisme est souvent observé.

- Après la ménopause : le tarissement des sécrétions hormonales explique le retour à un pH vaginal élevé idem et une flore commensale variée et équilibrée[55].

1.1.2 Les bactéries de la flore vaginale normale

La flore bactérienne dominante est composée d'une diversité de lactobacilles essentiellement (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii*, et *Lactobacillus iners*) appelés Flore de Döderlein [56].

Ce sont des bactéries qui transforment différentes formes de sucres (présents dans la muqueuse vaginale) en acide lactique, ce qui acidifie le milieu vaginal (donc diminue la prolifération des mauvaises bactéries qui ne supportent pas le milieu acide) [56].

Il y a aussi des bactéries appartenant à divers groupes écologiques issues des flores digestives et oropharyngées de l'homme et des bactéries de portage fréquent issus d'hôtes usuels de la flore digestive, essentiellement [57]:

- *Streptococcus agalactiae* et *Enterococcus sp* ;
- Des entérobactéries : *Escherichia coli* majoritairement et des bactéries anaérobies ;
- et autres: *Gardnerella vaginalis*, Corynébactéries, mycoplasmes et certains *Haemophilus sp* ;
- Des bactéries d'origine oro-pharyngée sont parfois présentes dans la flore vaginale : *Haemophilus influenzae* , *Streptococcus pneumoniae* , voire *Streptococcus pyogenes* et *Neisseria meningitidis* ;

- Des bactéries des maladies vénériennes : *Neisseria gonorrhoeae* et *trachomatis* [56].

Chlamydia

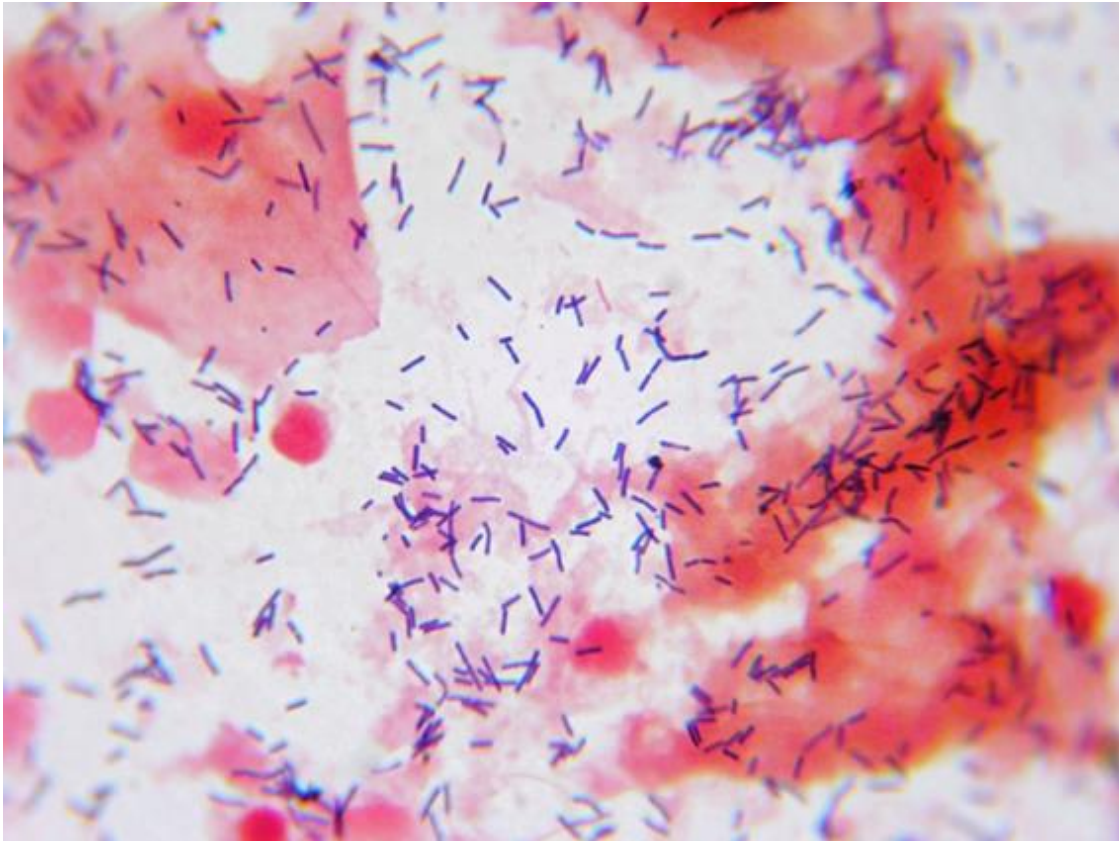


Figure 12 La flore vaginale normale (Identification bactérienne).

1.1.3 L'importance de l'équilibre de la flore vaginale

La présence des lactobacilles qui constituent la flore de Döderlein est indispensable car ces bactéries bénéfiques possèdent à des degrés divers des fonctions de protection des voies génitales [56]

Les Lactobacillus inhibent la croissance des pathogènes :

- En créant un environnement acide qui protège le vagin de la colonisation par des germes pathogènes. Seules les levures ne sont pas sensibles à cette acidité. Cette acidification résulte de la fermentation du glycogène en acides organiques (acide lactique essentiellement).
- En produisant de puissants oxydants par réduction incomplète du dioxygène en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et anion superoxyde (O₂⁻). Ces produits sont toxiques pour les bactéries, comme les anaérobies strictes, qui ne possèdent pas de système de détoxification (catalase, peroxydase, super oxyde dismutase = SOD)

- En produisant des bactériocines qui agissent sur la plupart des pathogènes vaginaux en formant des pores dans leur membrane cytoplasmique[12].

Les Lactobacillus inhibent l'adhésion des pathogènes :

- En se fixant avec une meilleure affinité aux cellules épithéliales ;
- En sécrétant des biosurfactants, comme la surlactine, molécules amphiphiles qui créent un film à la surface des cellules épithéliales empêchant ainsi l'adhésion des pathogènes.

Les Lactobacillus inhibent l'expansion des pathogènes

- L. gasseri* sécrète une protéine qui provoque la migration des macrophages facilitant ainsi l'élimination des pathogènes.
- Certains lactobacilles stimulent les monocytes qui sécrètent des substances pro-inflammatoires dont TNF alpha, IL6 et IL10 [12].

Tous les lactobacilles présents dans la cavité vaginale ne sont pas dotés de toutes ces propriétés, ce qui explique, en partie, la disparité de réactions vis-à-vis des agressions microbiennes d'une femme à l'autre [58].

1.1.4 Les éléments perturbateurs de la flore vaginale

Une flore vaginale équilibrée est une flore dominée par les lactobacilles chez la femme pubère non ménopausée.

Les facteurs susceptibles de rompre cet équilibre et donc d'entraîner des infections sont multiples : les antibiotiques (sauf le métronidazole et les quinolones), les antifongiques, les spermicides, les diaphragmes, les stérilets, les douches vaginales, les pantalons serrés, la multiplicité des partenaires sexuels et le tabac[12].

La composition de l'écosystème vaginal n'est pas statique mais change au fil du temps et en réponse aux influences endogènes et exogènes. [59].

Les variables comprennent le stade du cycle menstruel, la grossesse, l'utilisation d'agents contraceptifs, la fréquence des relations sexuelles, les partenaires sexuels spécifiques, le vagin douches vaginales, utilisation de protège-slips ou de déodorants vaginaux et utilisation d'antibiotiques ou d'autres médicaments à activité immunitaire ou endocrinienne. L'exposition à un milieu modifié entraînera une fluctuation de l'environnement local et augmentera ou diminuera l'avantage sélectif de microbes vaginaux spécifiques. Par exemple, la perte de lactobacilles dans le vagin a été associée à des rapports sexuels ou à l'utilisation d'antibiotiques pour des maladies non vaginales. . [59].

Une autre étude a révélé que les rapports sexuels sans préservatif n'avaient aucun effet sur les lactobacilles vaginaux mais conduisaient à une élévation des niveaux d'*Escherichia coli* et des bacilles Gram négatifs facultatifs.[59].

Au cours du cycle menstruel, les niveaux vaginaux d'hormones et de glycogène varient, et le sang menstruel modifie le pH vaginal et fournit un substrat pour de nombreux micro-organismes. Néanmoins, les niveaux de lactobacilles vaginaux semblent rester constants tout au long du cycle; les espèces non *Lactobacillus* augmentent pendant la phase de prolifération, tandis que les concentrations de *Candida albicans* sont les plus élevées vers la menstruation (selon la culture)[60]

2 Escherichia coli dans les infections urinaires basses

Infection urinaire est considérée comme l'infection bactérienne la plus fréquente; *Escherichia coli* étant l'agent causal le plus courant [61].

Escherichia coli est une bactérie naturellement présente dans la flore intestinale de l'homme et des animaux homéothermes. Elle colonise de façon asymptomatique le tractus digestif des nouveaux nés dès les premières heures de la naissance, environ 10^7 à 10^9 Unité Formant Colonie d'*E.coli* par gramme (UFC/g) de fèces ce qui en fait la bactérie aéro-anaérobie facultative majoritaire. Les isolats vaginaux d'*E.coli* qui sont pour la moitié de sérotype K1 [56], possèdent un équipement génétique codant certains facteurs de virulence qui favorisent la colonisation de la cavité vaginale, l'envahissement du liquide amniotique et le développement d'une infection chez le nouveau-né [9], et au tube digestif [62].

3 Escherichia coli dans les infections néonatales

3.1 Définition de l'infection néonatale

Toute infection bactérienne, virale ou parasitaire qui intervient entre le premier jour et la quatrième semaine après la naissance est appelée infection néonatale. On distingue deux types d'infection néonatale. L'infection néonatale dite précoce apparaît entre le jour de la naissance et le quatrième jour après la naissance. L'infection néonatale retardée va apparaître entre le cinquième et le vingt-huitième jour après la naissance

L'infection néonatale précoce (INP) reste une préoccupation majeure dans les pays en voie de développement comme dans les pays industrialisés. Parce qu'aucun élément clinique ni marqueur biologique n'est assez sensible, ni spécifique pour permettre à lui seul d'établir le diagnostic, la prise en charge repose sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques et expose de nombreux nouveau-nés à des examens complémentaires et antibiothérapies néonatales dont les effets délétères sont aujourd'hui établis (émergence de bactéries multi résistantes, perturbations du microbiote impliquées dans la survenues de pathologies ultérieures). Alors que la prévalence des infections néonatales précoces a diminué depuis la généralisation de l'antibioprophylaxie perinatale, l'évidence s'impose d'adapter notre stratégie médicale à ces modifications

épidémiologiques récentes. Une approche basée sur un fort niveau de preuve scientifique, combinant des données d'anamnèse, cliniques et de biologie comme la procalcitonine semble à ce jour la meilleure stratégie pour distinguer la population des nouveau-nés à très faible risque infectieux de celle à fort risque et limiter ainsi les indications d'antibiothérapie néonatale. [63].

3.1.1 Infections mterno-foetales

Elles sont fréquentes et présentent un taux de mortalité élevé en particulier chez les prématurés avec un risque de complications majeures de type neurologique, il s'agit donc d'un problème de santé publique qui nécessite une stratégie diagnostic et thérapeutique optimale, il appartient au microbiologiste de collaborer étroitement avec le clinicien pour intervenir, efficacement, le plus rapidement possible [12].

3.1.1.1 Septicemie

Le sepsis néonatal est une infection invasive, habituellement bactérienne, survenant au cours de la période néonatale. Les symptômes sont multiples, non spécifiques et comprennent une diminution de l'activité spontanée, une succion moins vigoureuse, apnée, bradycardie, instabilité thermique, détresse respiratoire, vomissements, diarrhée, distension abdominale, nervosité, convulsions et ictère. Le diagnostic est clinique et est basé sur les résultats de la culture. Le traitement comprend initialement de l'ampicilline, avec de la gentamicine ou du céfotaxime, qui est ensuite adapté avec des antibiotiques plus spécifiques dès que possible.[64].

Les signes précoces de sepsis néonatal sont souvent non spécifiques, modérés et ne permettent pas d'orienter vers un agent infectieux particulier (même viral). En particulier, les premiers signes communs comprennent

- Diminution de l'activité spontanée
- Succion moins vigoureuse
- Anorexie
- Apnée
- Bradycardie
- Instabilité thermique (hypothermie ou hyperthermie)
- La fièvre n'est présente que dans 10 à 15% des cas mais quand elle persiste (p. ex., > 1 h), elle témoigne généralement d'une infection[64].Le risque de septicémie, qu'elle soit précoce ou tardive, est beaucoup plus élevé chez les prématurés que chez les enfants nés à terme en raison de l'immaturation de leur système immunitaire. Les prématurés sont dépourvus de certains anticorps contre

des bactéries spécifiques car ces anticorps ne traversent la barrière placentaire de la mère que tardivement pendant la grossesse [65]

3.1.1.2 Méningites

La méningite bactérienne néonatale est une inflammation des méninges due à un envahissement bactérien. Les symptômes sont ceux du sepsis, une irritation du SNC (p. ex., léthargie, convulsions, vomissements, irritabilité, [en particulier irritabilité paradoxale], rigidité du cou, fontanelle bombante), et des anomalies des nerfs crâniens. Le diagnostic repose sur la ponction lombaire. Le traitement repose sur les antibiotiques. La méningite néonatale est la forme la plus sévère des infections néonatale à *Escherichia coli* qui représente une urgence médicale et thérapeutique [66].

3.1.2 Infections associées aux soins

Les infections nosocomiales représentent un problème majeur pour les prématurés et les enfants à terme présentant des troubles médicaux nécessitant une hospitalisation prolongée. Le nouveau-né à terme en bonne santé a un taux d'infection < 1%. Dans le cas des enfants en unités de soins spécialisées, l'incidence augmente de façon inversement proportionnellement au poids de naissance. Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont les infections sanguines associées aux voies centrales et la pneumonie hospitalière. Pour les infections du site opératoire (ISO), on considère comme (IAS), les infections survenant dans les 30 jours après intervention ou s'il y a mise en place d'un implant ou d'une prothèse dans l'année suivant l'intervention [12].

3.1.3 Infection post natales

Elles sont moins fréquentes que les IMF et surviennent après un délai de plusieurs jours de la naissance, elles résultent, le plus souvent, d'un germe provenant de l'environnement direct du nouveau-né, de l'alimentation ou bien d'un germe maternel révélé secondairement ou effectivement acquis à distance de la naissance [67].

3.2 Epidémiologie des infections néonatales

3.2.1 Facteurs de risque

3.2.1.1 Prématurité spontanée

Selon l'Organisation Mondiale de Santé (OMS), toute naissance avant le terme de 37^{ème} semaine d'aménorrhée mais de plus de 22^{ème} semaine d'aménorrhée (SA) est considérée comme prématurée. Une naissance prématurée peut être spontanée ou provoquée, une prématurité spontanée résulte d'un déclenchement inopiné de travail alors que la prématurité provoquée recouvre toutes situations ou interruptions de la grossesse avant terme, qui est le résultat d'une décision médicale [68].

En 2015, 9,63% des naissances aux États-Unis étaient prématurées (contre 10,44% en 2007). Parmi celles-ci, 71% étaient tardives et 29% (2,76% des naissances) sont survenues à < 34 semaines (1). Les prématurés, même peu prématurés qui ont la taille de certains nourrissons nés à terme, présentent une morbidité et une mortalité accrues comparativement aux enfants nés à terme, en raison de leur prématurité [69].

3.2.1.2 Rupture prématurée des membranes

Une rupture prématurée des membranes quel que soit le moment augmente le risque du fait des éléments suivants:

- Infection chez la femme (chorioamnionite [infection intra-amniotique]), le nouveau-né (état septique), ou les deux
- Anomalie de présentation fœtale
- Décollement placentaire prématuré (hématome rétroplacentaire)

Les streptocoques du groupe B et *Escherichia coli* sont des causes fréquentes d'infection. D'autres microorganismes issus du vagin peuvent également être à l'origine d'une infection [70].

La rupture prématurée des membranes plus de 12 heures avant l'accouchement est le facteur de risque le plus retrouvé en littérature avec une association statistiquement significative à la survenue de l'infection, ce risque est augmenté à 1% pour un seuil de 18 heures, alors que la fréquence de celle-ci sera multipliée par 10 à 100 après 24 heures [71].

3.2.1.3 La chorioamnionite

La chorioamnionite est définie par la présence de germes ou d'infection dans le liquide amniotique ou au niveau des deux membranes qui le contiennent : chorion et amnios.[66]

L'infection intra-amniotique provoque généralement une fièvre. Les autres symptômes comprennent une tachycardie maternelle et fœtale, une sensibilité utérine, un liquide amniotique nauséabond et/ou un écoulement cervical purulent. Cependant, l'infection peut ne pas provoquer ces symptômes typiques (c'est-à-dire, infection infraclinique) [72].

3.2.1.4 L'immuno-incompétence néonatale

Le développement des défenses immunitaires chez le nouveau né est marqué par une double immaturité, humorale et cellulaire : les tests de la fonction lymphocytaire T au niveau du sang ombilical sont normaux. Par contre, la production de lymphotoxine, de facteurs inhibiteurs de migration (MIF), d'acide adénosine monophosphorique cyclique (AMPc) ainsi que la phagocytose sont déficients [73].

3.2.2 Mode de contamination

La transmission materno-fœtale des bactéries a lieu suivant trois modes de contamination :

3.2.2.1 Voie hématogène placentaire

Elle est à l'origine d'une contamination massive au cours d'une septicémie ou bactériémie maternelle ou à partir d'un foyer d'endométrite qui joue le rôle de foyer intermédiaire et inocule le placenta. L'envahissement infectieux se fait par la veine ombilicale. C'est rarement le mode de contamination du fœtus [67].

3.2.2.2 Voie ascendante

Contamination lors du passage dans les filières génitales

Dès les premiers jours de vie, le tractus gastro-génital du nouveau-né qui était stérile à la naissance sera colonisé par *Escherichia coli*K1. Environ 20 à 30% des nouveaux nés deviennent colonisés au niveau de leurs flores fécales avec l'*Escherichia coli* K1[67].

3.2.2.3 Contamination au passage dans la filière génitale

Une colonisation par inhalation ou ingestion de sécrétions vaginales peut être à l'origine d'une infection centrale [67]. Une fois cette colonisation faite, ce sont les capacités de défense du fœtus et/ou du nouveau-né, la charge et la virulence bactériennes, qui vont déterminer le développement ou non d'une infection [74].

Dès les premiers jours de vie, le tractus gastro-génital du nouveau né qui était stérile à la naissance sera colonisé par *Escherichia coli*K1. Environ 20 à 30% des nouveaux nés deviennent colonisés au niveau de leurs flores fécales avec l'*Escherichia coli*K1 [67]

La figure suivante présente les différents modes de contamination :

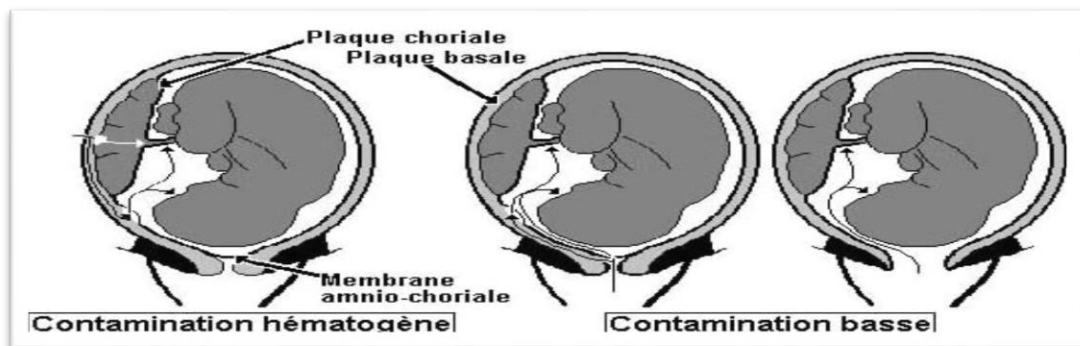


Figure 13 Modes de contamination de l'infection néonatale (Infections du nouveau-né : mode de contamination par RAMBAUD.P).

3.2.3 Prévalence des infections néonatales à *Escherichia coli* K1

D'après les données de l'ANAES en 2002, l'incidence des infections néonatales prouvées était estimée de 1 à 4 pour 1 000 naissances vivantes [74]. Les deux principaux germes responsables

d'IMF chez les enfants à terme sont le *Streptocoque du Groupe B (SGB)* et l'*Escherichia coli*. Ils représentent respectivement 62,5 % et 25 % des infections certaines [75].

L'*E.coli* est le second germe impliqué dans 16 à 36% des infections néonatales, dont le sérotype K1 est responsables de 80-90% des méningites néonatales et de 50% des bactériémies à *E.coli*. Chez les grands prématurés, la répartition des IN à *SGB* et *E.coli* s'inverse avec respectivement 10 à 20% et 40 à 50% des cas [74].

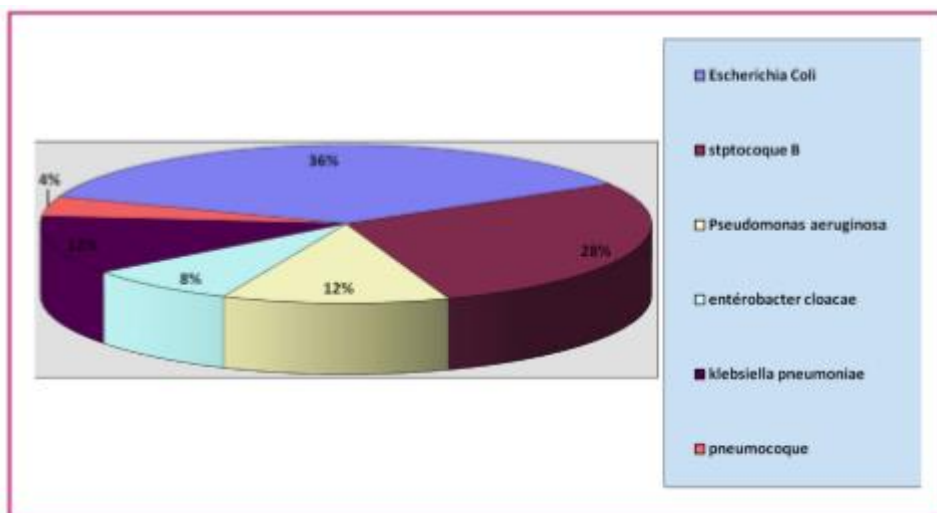


Figure 14 Profil bactériologique du nouveau-né prématuré

Chapitre 3 : Rôle du laboratoire dans la lutte contre les infections néonatales à 'Escherichia coli K1

1 Indication de la recherche d'*Escherichia coli* K1

➤ Dépistage de portage vaginal d'*Escherichia coli* K1 chez la femme enceinte

La recherche d'*E.coli* K1 au cours de la grossesse n'est justifiée qu'en cas d'existence de facteur de risque infectieux, notamment l'ouverture prématurée de col, Une rupture prématurée des membranes et la fièvre maternelle. [76].

Escherichia coli k1 est rarement visible à la coloration de Gram quel que soit la densité apparente de la culture c'est pour cela que la recherche de la bactérie impose une mise en culture des sécrétions vaginales [73].

➤ **Diagnostic de l'infection néonatale à *Escherichia coli* K1 chez le nouveau-né**

Le diagnostic d'infection néonatale est difficile. Le nouveau-né est suspect d'infections dès qu'il existe des éléments cliniques appelés «critères majeurs» et «critères mineurs». la présence d'un ou plusieurs de ces critères conduit à prescrire un bilan biologique qui comporte, au minimum, un hémogramme, des marqueurs sériques de l'inflammation (au moins le dosage de la CRP), et un bilan bactériologique [12].

Tableau 2 Critères d'indication de la recherche d'*Escherichia coli* K1 (Denis. 2011)

Critères majeurs	Un tableau évocateur de chorioamniotite
	Un jumeau atteint d'une infection maternofoetale
	La température maternelle avant ou en début de travail $\geq 38^{\circ}\text{C}$
	La prématurité spontanée < 35 semaines d'aménorrhée (SA)
	Une durée d'ouverture de la poche des eaux ≥ 18 heures
	La rupture prématurée des membranes (RPM) avant 37 SA
	Une parturiente qui a : *un antécédent d'infection maternofoetale à SGB; *un portage vaginal de SGB ; *une bactériurie à SGB, la mère n'ayant pas reçu une antibioprophylaxie complète au moment de l'accouchement.
Critères mineurs	Une durée d'ouverture de la poche des eaux > 12 heures mais ≤ 18 heures
	la prématurité spontanée < 37 SA et ≥ 35 SA
	la tachycardie foetale isolée
	l'asphyxie foetale non expliquée

2 Prélèvements à réaliser pour la surveillance du portage vaginal d'*Escherichia coli* K1 au cours de la grossesse

2.1 Prélèvement vaginal

Le prélèvement vaginal est en règle général pratiqué à partir de la 37^{ème} semaines d'aménorrhée. Il a pour but principal de dépister le *SGB* afin d'organiser une antibioprophylaxie per-partum [75].



Figure 15 Matériel Medilab pour prélèvement vaginal[77]

2.2 Prélèvement d'urine pour examen cyto bactériologique des urines

Un ECBU consiste en un examen cytologique et bactériologique des urines. Il peut être effectué dans le but de diagnostiquer une infection ou pour contrôler l'efficacité du traitement antibiotique. [78].

3 Prélèvements à réaliser chez le nouveau-né en cas de suspicion d'infections néonatales

Le prélèvement chez le nouveau-né a comme objectif d'aider au diagnostic d'infection néonatale. Il comprend des prélèvements du liquide gastrique, méconium et orifices, des hémocultures et du liquide céphalorachidien du nouveau-né [12].

3.1 Tubage gastrique

Le prélèvement du liquide gastrique établit très approximativement le contenu bactérien du liquide amniotique à la naissance. Celui-ci comporte naturellement les bactéries acquises in utéro pendant l'accouchement, puis au passage de la filière génitale, voire celles de la flore fécale maternelle sur le périnée [12].



Figure 16 Tubage gastrique d'un nouveau-né[79]

3.2 Méconium

Le méconium est le terme qui désigne les premiers excréments du nouveau-né, au moment de l'accouchement et pendant plusieurs jours après sa naissance. Il est composé du liquide amniotique qu'il l'a absorbé in-utéro [80].

Quelques ml sont prélevés à l'aide d'une spatule stérile et acheminés à température ambiante [12].

3.3 Autres prélèvements : Hémocultures, LCR

3.3.1 Hémoculture

Les hémocultures sont réalisées chez tous les nouveaux nés suspects d'infection dès que le diagnostic de bactériémie est évoqué [81].

En effet, ce moyen diagnostique reste la méthode de référence pour documenter la diffusion hémotogène des bactéries à risque infectieux d'origine maternelle. Leurs performances sont très dépendantes de la qualité du prélèvement réalisé si possible avant tout traitement antibiotique [12].

Les hémocultures chez les nouveaux nés ont quelques spécificités en raison de la faible quantité de sang que l'on peut prélever [12].

En raison du neurotropisme d'*E.coliK1* et de *S.agalactiae* de sérotype III, avec ses conséquences diagnostiques et thérapeutiques (plus haut risque de méningite associée), le sérotypage du colibacille et de *S.agalactiae* des souches isolées à partir d'hémoculture est recommandé [81].

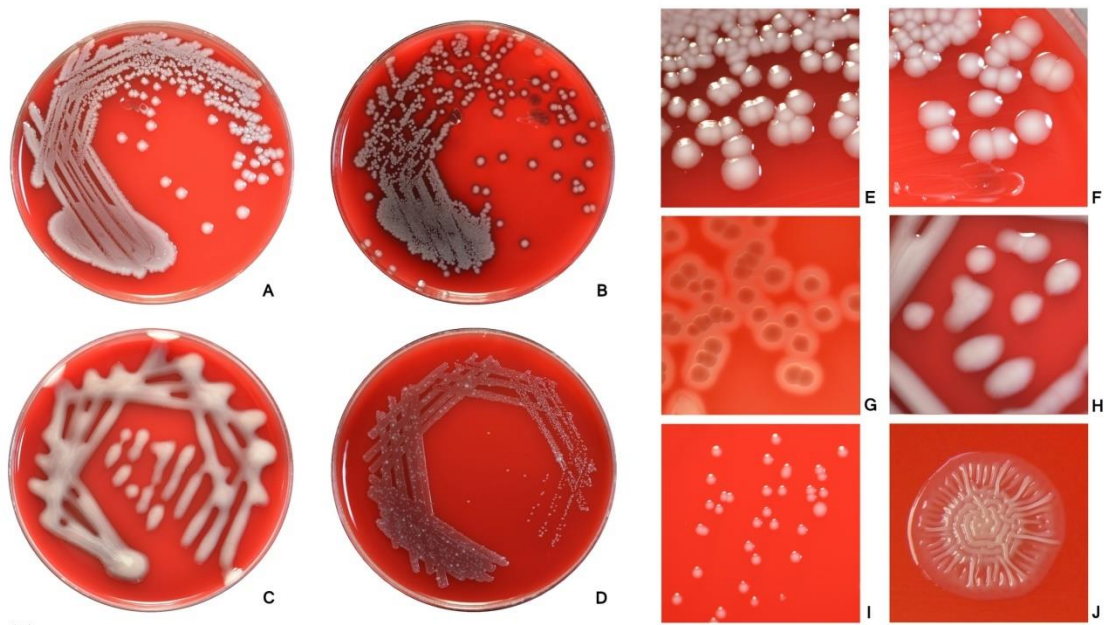


Figure 17 : Colonies d'*Escherichia coli* sur gélose au sang frais (Mc Conkey)[82]

3.3.2 LCR

La ponction lombaire (PL) chez les enfants de moins de 72 heures est indiquée en cas d'altération de l'état général, de signes cliniques neurologiques ou de signes de sepsis (dès que l'état de l'enfant le permet), et secondairement en cas d'hémoculture positive. En cas de méningite, une PL de contrôle est faite 48 heures plus tard [81].

La recherche dans le LCR d'antigènes solubles de *S.agalactiae* et d'*E.coli K1* est un appoint diagnostique utile en cas d'antibiothérapie maternelle ou néonatale préalable [81].



Figure 18 Ponction lombaire du nouveau-né (BABY STAP Mode d'emploi)

4 Techniques de recherche d'*Escherichia coli* K1 au laboratoire de bactériologie

4.1 Mise en culture des prélèvements vaginaux et des prélèvements du nouveau né :

4.1.1 Prélèvements vaginaux

L'examen bactériologique consiste à ensemencer des milieux de culture avec les écouvillons qui ont servi au prélèvement. Ces milieux seront incubés à 37 °C pendant 24 heures. C'est à partir de ces cultures que se feront la recherche, l'isolement et l'identification des germes. Une étude microscopique permettra d'apprécier l'équilibre de la flore vaginale, la présence de réaction inflammatoire, la présence de Clue Cells et la présence de *Trichomonas vaginalis*. Des enrichissements sont réalisés pour les prélèvements vaginaux et ces derniers sont mis en culture quand la primoculture est négative. L'enrichissement permet d'optimiser la recherche des bactéries à Haut Risque néonatal [78].



*Figure 19 Coloration de Gram d'*Escherichia coli* (Identification bactérienne)*

4.1.2 Prélèvements du nouveau-né

Le méconium est normalement stérile. L'examen se pratique comme pour le liquide gastrique. La culture des prélèvements gastriques et périphériques permet de mettre en évidence la colonisation du nouveau-né[81].

La lecture interprétative des cultures se fait après une durée d'incubation de 24 à 48 heures à 37°C [81].

4.2 Techniques usuelles de l'étude bactériologique de l'urine, LCR et l'hémoculture :

4.2.1 L'urine

Quand le technicien de laboratoire réceptionne l'échantillon d'urine, il effectue un examen macroscopique de l'urine où il note:

- L'aspect: limpide, ou trouble (cet aspect suggère la présence de leucocytes), ou hématurique (cet aspect suggère la présence de sang).
- La couleur: jaune pâle, jaune foncé (ce qui renseigne sur la concentration en eau de l'urine).
- L'odeur: si l'odeur est fétide, il pensera aux bactéries anaérobies.
- La présence de filaments dans les urines suggère une infection de l'urètre [78].



Figure 20 ECBU au sein du laboratoire[83]

Le technicien place ensuite une goutte d'urine dans une microcellule en verre de volume précisément égal à 1mm³. Il compte ensuite au microscope le nombre de leucocytes et le nombre de globules rouges contenus dans ce mm³ [80].

La numération bactérienne sur les milieux gélosés se fait après incubation à 37°C[80]. Ainsi une estimation de la numération bactérienne est établie selon la figure 14 :

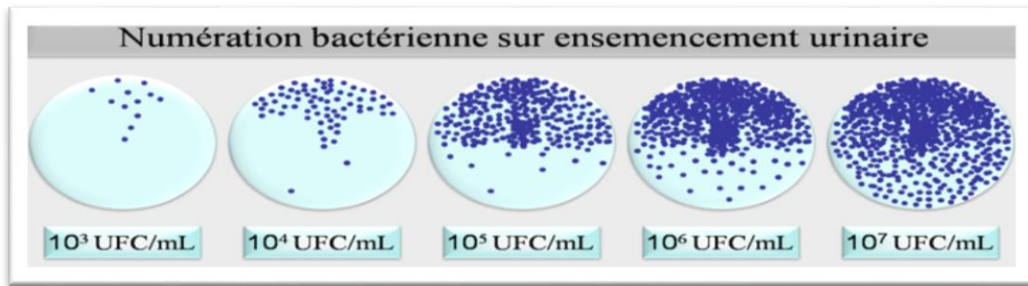


Figure 21 Dénombrement de microorganismes urinaires

Interprétation :

- Bactériurie < 10^3 UFC / ml : absence d'infection.
- Bactériurie > 10^5 UFC / ml : infection probable.
- Entre 10^3 et 10^4 UFC / ml : zone d'incertitude [80].

Il ensemence rapidement les milieux de culture de base (chaque milieu se présente sous forme d'une mince couche de substance nutritive gélifiée) à raison d'une goutte d'urine par milieu de culture.

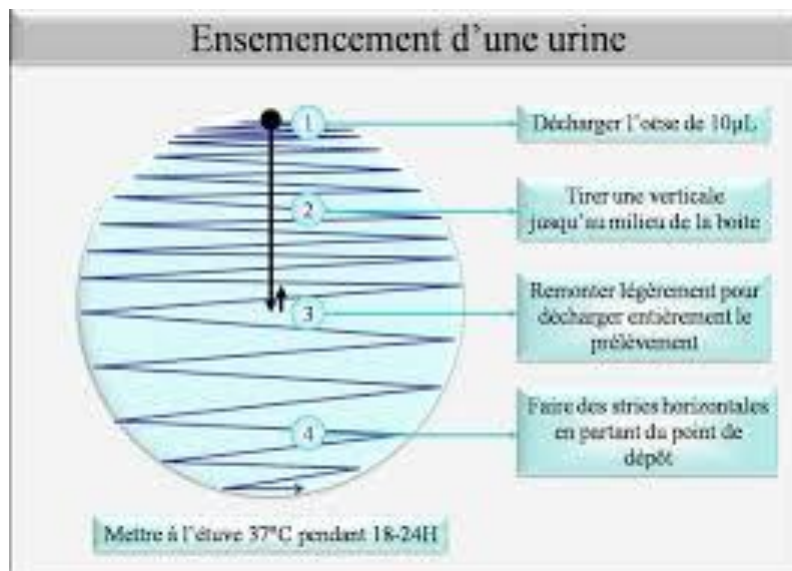


Figure 22 Schéma de technique[84]

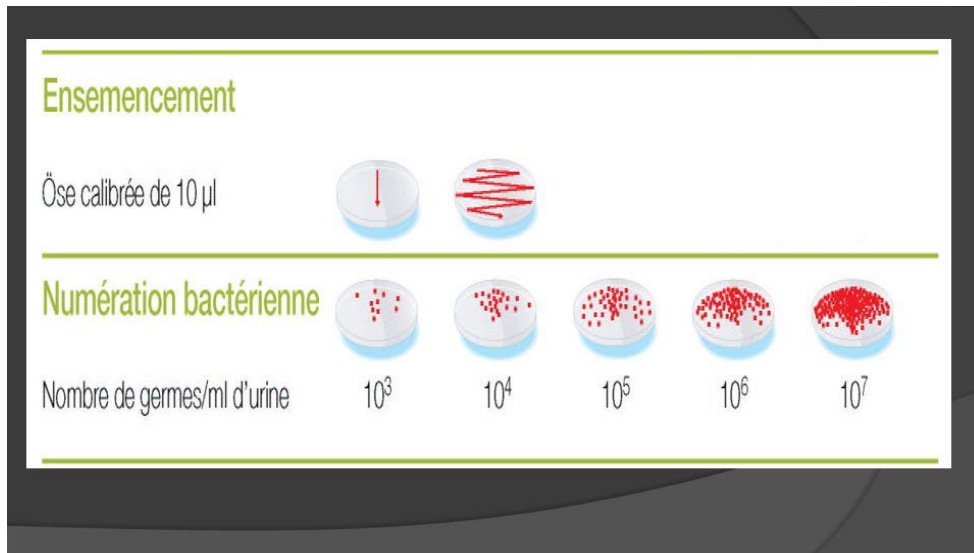


Figure 23 Ensemencement d'urine sur les géloses[84]

4.2.2 LCR

Introduire une goutte de LCR dans une cellule de Malassez recouverte d'une lamelle pour faciliter l'identification des cellules, puis ensemencer un milieu de base sélectif à la recherche d'E.coli et l'incuber au minimum 48 heures à 37°C [85].



Figure 24 Lamelle de Malassez en verre[86]

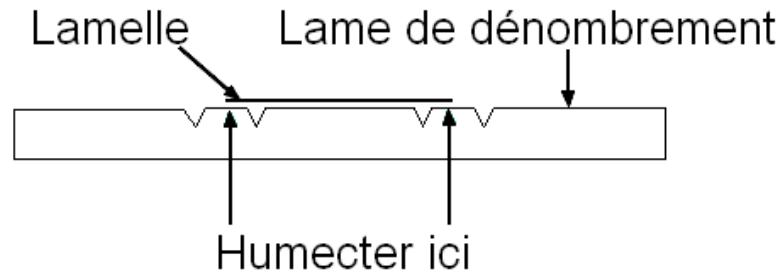


Figure 25 Schéma explicatif de la cellule de Malassez[86]

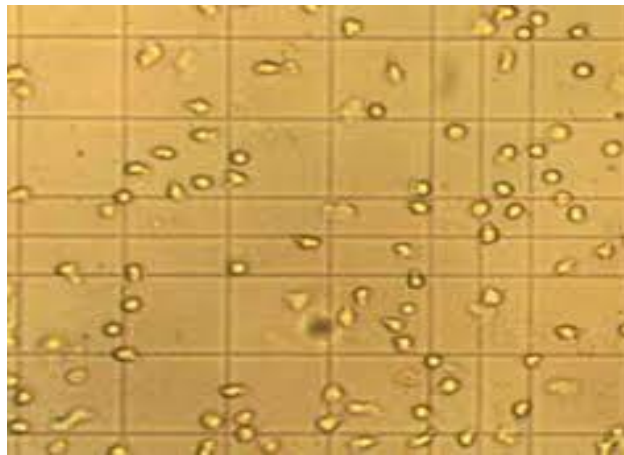


Figure 26 Examen après coloration (x1000)[87]

4.2.3 Hémoculture

Chaque jour ou mieux deux fois par jour, les flacons sont inspectés en vue de rechercher des signes témoignant d'une croissance visible. Avec une certaine habitude, il est possible en fonction de l'aspect d'un flacon de pressentir l'identité de la bactérie en cause. Le système Signal utilise un seul flacon sur lequel est adapté un dispositif permettant de signaler la surpression produite dans le flacon par la croissance microbienne.[80].

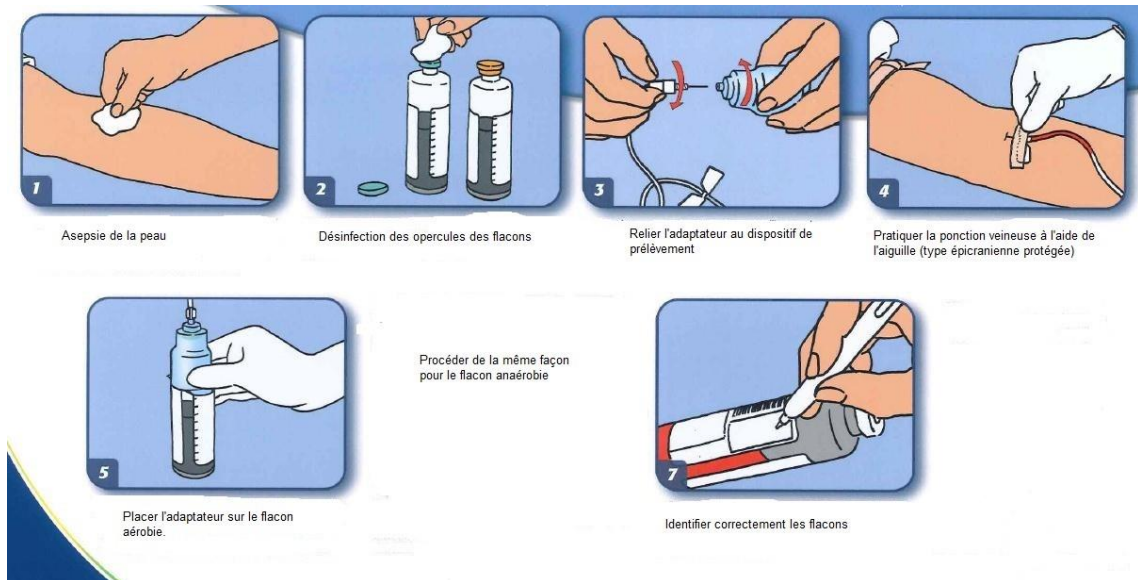


Figure 27 Technique pour préparer une hémoculture.

4.3 Identification d'espèce

4.3.1 Identification classique

4.3.1.1 Identification macroscopique

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte de diagnostique effectué pour identifier des souches isolées. Pour cela, nous avons procédé à l'observation macroscopique des colonies en déterminant l'aspect, la forme, la couleur, ...etc. Pour l'*Escherichia coli*, les colonies qui se développent sur gélose MacConkey sont rouges ou incolores atteignant un diamètre de 2 ou 3 mm, elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies et ne produisent pas d'entérotoxines [88].



Figure 28 Détermination des colonies bactériennes d'*E. coli* (Recherche et identification d'*E. coli*)

4.3.1.2 Identification microscopique

L'examen à l'état frais et après coloration de Gram permet de mettre en évidence la mobilité ou non de la bactérie, sa forme bâtonnet ainsi qu'il s'agit d'un bacille Gram négatif. Toutefois, l'identification macroscopique et microscopique des colonies n'est pas toujours suffisante, d'où la nécessité d'une identification biochimique[89].

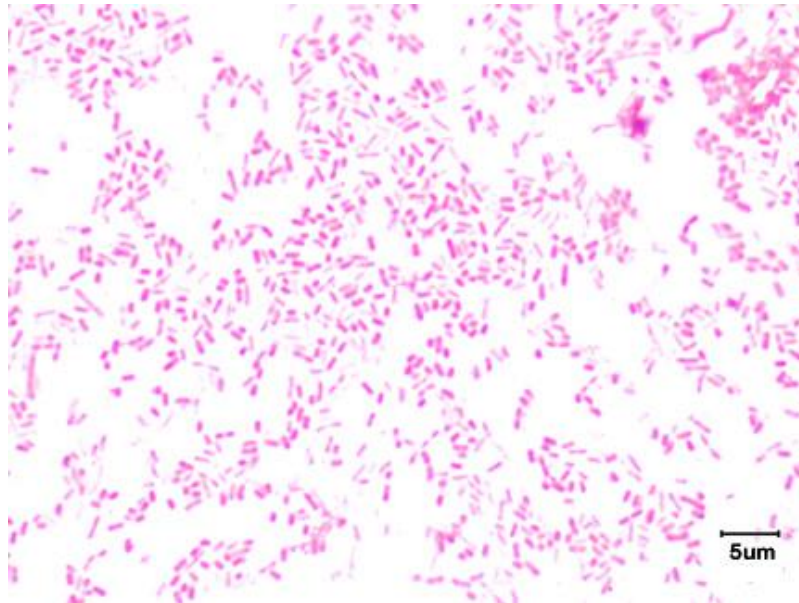


Figure 29 Escherichia coli après la coloration de Gram[90]

4.3.1.3 Identification biochimique

Escherichia coli est une bactérie ne possédant pas de désaminase, ce qui exclut les genres *Proteus*, *Morganella* et *Providencia*. Elle fermente le glucose par la voie des acides mixtes (RM+, VP-), ce qui exclut les genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*. En plus des autres caractères cités précédemment [26].

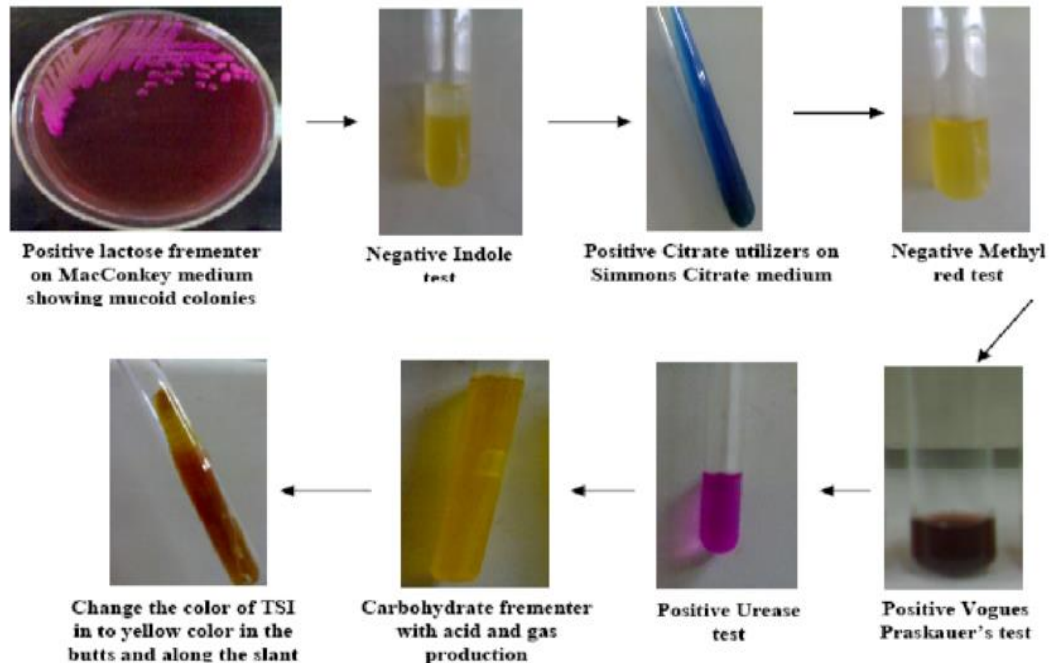


Figure 30 Identification biochimique d'*E.coli*[90]

4.3.2 Identification par galerie API 20E

Il existe plusieurs moyens d'arriver à l'identification d'une souche :

- Soit on utilise des clés d'identification ;
- Soit on utilise la fiche de lecture API20E ;
- Soit on utilise un catalogue API20E après avoir complété une petite feuille API20E ;
- Soit on utilise un logiciel dans lequel on entre les résultats obtenus.

Avec le catalogue analytique ; additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification [26].

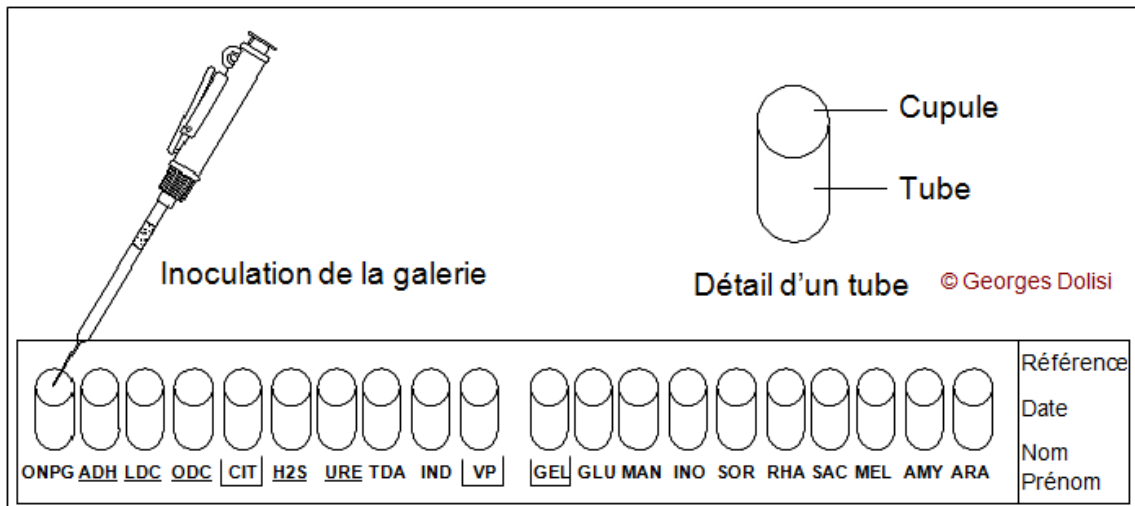


Figure 31 identification bactérienne via la galerie Api 20E[91]



Figure 32 L'aspect de la galerie contenant *E.coli* (lecture et interprétation : galerie Api 20E)

5 Détermination de l'antigène K1

Le réactif WellcogenTM*Nesseiriamentingitidis B/Escherichia coli K1* consiste en des particules de latex de polystyrène enrobées d'anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre l'antigène du *méningocoque* du groupe B. Ces particules de latex s'agglutinent en présence d'une quantité suffisante d'antigènes homologues, soit dans des liquides corporels soit dans des cultures de l'organisme. L'antigène polysaccharide K1 d'*E.coli* affiche une similitude structurale et immunologique avec l'antigène du *méningocoque* du groupe B, et le réactif WellcogenTM*meningitidis B/E.coli K1* ne fait pas de distinction entre les deux. Par conséquent, le réactif peut participer au diagnostic d'une méningite à *méningocoque* et d'une méningite néonatale à *E.coli* [92]. La figure suivante montre un test d'agglutination positif

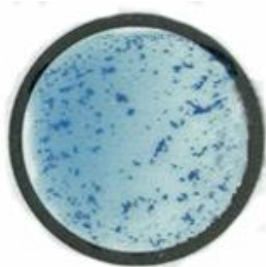


Figure 33 Test d'agglutination (Trousse de détection d'antigènes bactériens Wellcogen.2014)

Chapitre 4 : Etude de sensibilité aux antibiotiques

1 Méthode d'étude de sensibilité aux antibiotiques

1.1 L'antibiogramme

L'antibiogramme est conçu pour prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en termes d'efficacité clinique. Il permet de catégoriser une souche pathogène en catégories cliniques selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles [26]. La technique de réalisation de l'antibiogramme obéit aux recommandations du CLSI.

Une souche est dite :

- Sensible (S) : lorsque la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systématique.
- Résistante (R) : lorsqu'il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisé.
- Intermédiaire (I) : lorsque le succès thérapeutique est imprévisible [93].

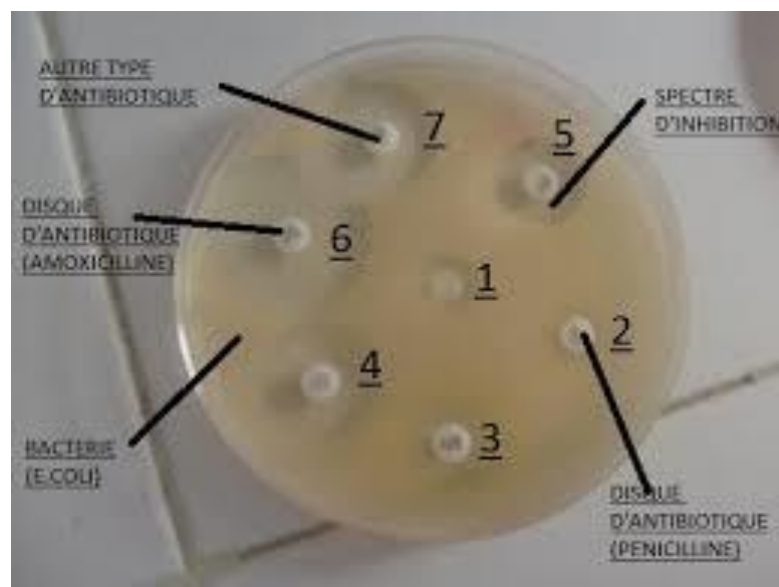


Figure 34 Lecture d'un antibiogramme (Réalisation de l'antibiogramme)

1.2 Méthode de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques

selon une progression géométrique. En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macro-dilution) ou de cupules (méthode de micro-dilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible [93].

La méthode de dilution en milieu gélosé est la méthode de référence pour la mesure de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques et elle est habituellement utilisée pour évaluer l'activité d'un agent anti-infectieux donné sur une ou plusieurs souches bactériennes naturelles [26].

Cette méthode est réalisée en incorporant l'antibiotique dans un milieu gélosé. La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique [93].

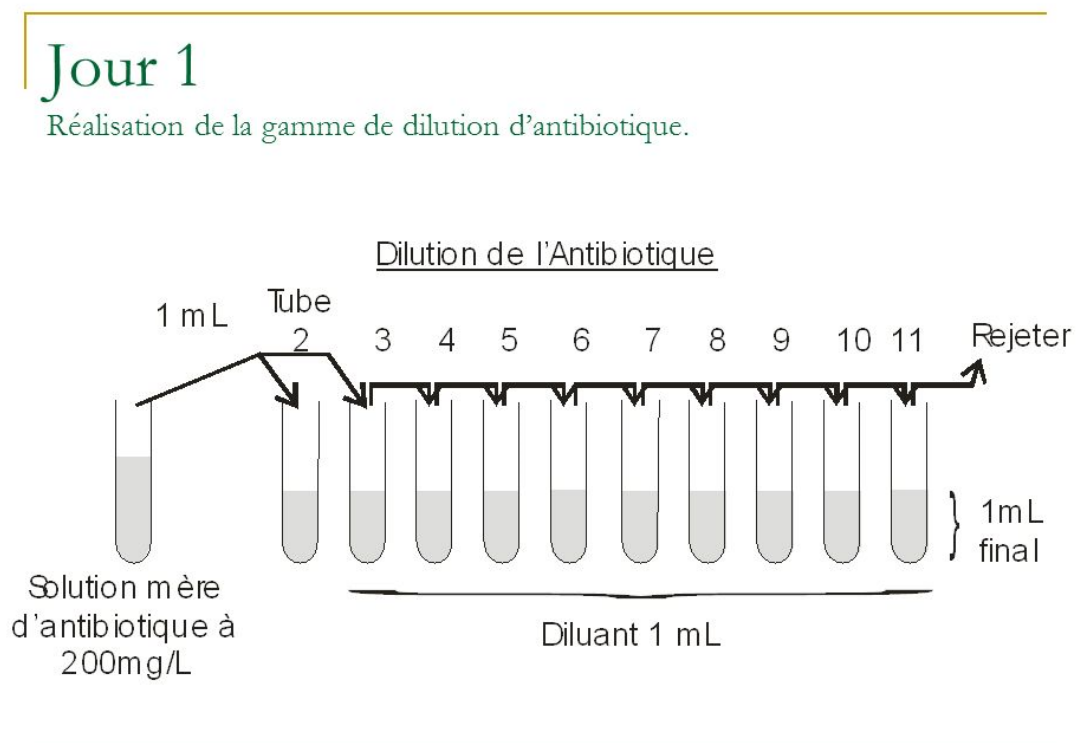


Figure 35 Détermination de la CMI et la CMB par macrométhode en milieu liquide.[94]

1.3 Technique en milieu gélosé : le Etest (Epsillometer test)

Le Etest permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester. L'Etest associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide. Les bandelettes sont appliquées

sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec un inoculum de la souche à étudier. Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse

d'inhibition dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. Une échelle de lecture, imprimée sur la bandelette, permet une interprétation rapide [93].



Figure 36 E-test (Epsillometer Test[95]

1.4 Antibiogramme automatisé

Il désigne les appareils effectuant la lecture et l'interprétation des tests faits manuellement. Ces appareils fonctionnent selon deux grands principes :

- Ils miment les tests conventionnels d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques ;
- Ils comparent la croissance d'un témoin à celle observée en présence d'une ou plusieurs concentrations d'antibiotiques. Les systèmes étudient la croissance bactérienne soit en présence d'une seule concentration d'antibiotique (concentration permettant de discriminer les bactéries sensibles des bactéries résistantes) soit en effectuant une analyse cinétique de la croissance [93].



Figure 37 AntibioGramme automatisé VITEK-2[82]

Chapitre 5 : Les moyens de lutte contre les infections néonatales à *Escherichia coli* K1

En effet, la moitié des infections bactériennes néonatales sont dues à des germes non pathogènes pour la mère. C'est le portage génital, situation à risque la plus fréquente chez la femme enceinte dont le dépistage est souvent difficile [73].

La lutte contre les infections materno-fœtales est un enjeu majeur en raison des séquelles néonatales notamment neurologiques et pulmonaires qu'elles peuvent engendrer. Par ailleurs, elle n'est pas significativement liée à une infection cervico-vaginale maternelle [76].

1 Antibio prophylaxie chez la femme enceinte

Le traitement de portage maternel d'*E.coli* au cours de la grossesse normale est inutile puisqu'il ne s'agit pas d'une infection vaginale et que les risques de récurrence du portage ultérieurement durant la grossesse sont importants car l'antibiotique ne supprime que temporairement ce portage[73], [96].Cependant, dans les situations obstétricales compliquées, une antibiothérapie adaptée à l'antibiogramme paraît justifiée[81].

1.1 Antibiothérapie au cours des situations à risque infectieux

1.1.1 Menace d'accouchement prématuré (MAP)

La prescription systématique d'antibiotique au cours de MAP à membranes intactes n'est pas recommandée [97]. En effet, il y a aucune démonstration dans la littérature sur son utilité dans l'amélioration de l'état néonatal ou la réduction du risque d'accouchement prématuré en cas de portage asymptomatique [98]. Cependant, l'attitude à adapter en cas de prélèvement vaginal positif associé à un MAP est plus discutable [98]. Dans ce cas, toute antibiothérapie systématique chez les patientes sans symptomatologie clinique génitale et qui ne sont pas entravées n'est pas indiquée [98]. En outre, la prise en charge de portage vaginal d'*E.coli* n'apporte pas de bénéfice clinique démontrée [99].

1.1.2 Chorioamniotite

Une antibiothérapie curative à large spectre doit être instaurée rapidement chez la mère et le fœtus au cours de chorioamniotite, il s'agit d'une association de Ceftriaxone et Gentamicine.

Si la patiente est allergique aux β -lactamines, une prescription d'Azactam associée à la Clindamycine sera indiquée [76]

1.1.3 Rupture prématurée des membranes (RPM)

La conduite à tenir en cas d'une rupture prématurée des membranes (RPM) diffère selon l'âge gestationnel auquel survient la rupture [76].

1.1.3.1 RPM avant 37 SA

Le traitement systématique d'antibiotique administré lors d'une RPM avant terme a pour but de traiter l'infection, de retarder l'accouchement prématuré et de réduire le risque d'infection néonatale. Elle est significativement associée avant la 34 SA pour une réduction significative de la morbidité maternelle et néonatale, une prolongation de la grossesse et une diminution des hémorragies intra ventriculaires [100]. Une antibiothérapie à large spectre est utilisée :

- On fait appel en première intention à « l'Amoxicilline » administrée par voie IV à une dose de 1 g \times 3/j pendant 48 heures puis 1 g \times 2/j en per os pendant 5 jours.
- En cas de prise récente d'Amoxicilline, on fait appel à une céphalosporine de 3^{ème} génération : « Céfotaxime » 1 g \times 3/j en IV pendant 48 heures puis « Céfixime » 200 mg \times 2/j en per os pendant cinq jours (ANAES.2001). [100]

L'antibiothérapie sera ensuite adaptée aux résultats de l'antibiogramme. En cas de culture négative et en l'absence de signes cliniques d'infection maternelle ou fœtale, la prolongation de l'antibiothérapie est inutile [81]

1.1.3.2 RPM après 37 SA

Au cours d'une RPM après 37 SA, environ 90% des patientes entrent en travail dans les 48 heures mais le risque infectieux maternel et fœtal apparaît après 24 heures voire 12 heures de rupture et il est augmenté par les touchers vaginaux répétés.

Une antibiothérapie systématique adaptée au résultat de prélèvement vaginal du neuvième mois est recommandée en cas de positivité.

En cas d'absence de germe :

- Le prélèvement vaginal doit être renouveler dès l'admission ;
- L'antibiothérapie systématique doit être débutée après 12 heures de rupture par l'Amoxicilline (2 g/j) substituée par la Clindamycine, 600 mg × 2/j en cas d'allergie à la Pénicilline [100]

1.2 Antibiothérapie maternelle et infection à *Escherichia coli* résistant à l'Ampicilline chez le nouveau-né

L'utilisation des antibiotiques en anténatal est loin d'être une situation rare [101], ce qui a soulevé plusieurs interrogations notamment sur ses conséquences pour le nouveau-né à une période où l'évolution des résistances et d'émergences des infections à *Escherichia coli* est particulièrement préoccupante [102].

Plusieurs études réalisées à travers le monde ont montré que les antibiotiques utilisés dans les quatre dernières semaines d'hospitalisation constituent un facteur de risque de transmission des *E.coli* multi-résistantes au nouveau-né [103]. En effet, l'antibioprophylaxie maternelle dirigée contre le *Streptocoque de groupe B* a des effets sur l'incidence et la résistance d'*E.coli* impliqué dans les infections néonatales [101]. Ils ont constaté que les nouveaux nés d'une mère qui a reçu des antibiotiques en per-partum sont les plus susceptibles d'être infectés par *Escherichia coli* résistant à l'Ampicilline [102]. Ils ont noté aussi que l'antibiothérapie anténatale représente un risque de colonisation aux entérobactéries ampicilline résistantes (ampi-R) et à pyocyaniques [73] et ce risque sera d'autant plus élevé avec l'augmentation de la durée de l'antibiothérapie. En France, Kuhn et al ont identifié 50% d'IN à *E.coli* résistants à l'Ampicilline en lien significatif uniquement avec une antibiothérapie maternelle prescrite pendant une durée de 8 jours pour rupture prématurée des membranes [102].

Il est donc la responsabilité des pédiatres infectiologues de privilégier l'utilisation des antibiotiques à spectre étroit à chaque fois qu'il est possible et d'évaluer la durée des antibiothérapies afin de les ramener à des durées les plus courtes possibles [101]. Une identification précoce des isolats vaginaux est indispensable afin d'établir une stratégie prophylactique ayant un impact positif sur la réduction de la mortalité néonatale notamment dans les pays en voie de développement où le taux de mortalité due à l'échec thérapeutique est généralement élevé [103].

2 Prise en charge thérapeutique de nouveau né

L'infection néonatale représente une urgence extrême imposant une prise en charge précoce et immédiate au sein des structures hospitalières adaptées qui repose sur une antibiothérapie probabiliste par voie

intraveineuse administrée en urgence, à réévaluer après 48 heures afin de décider de poursuivre ou non le traitement [75] [104].

2.1 L'antibiothérapie probabiliste

Le choix de traitement probabiliste repose sur d'éventuels éléments d'orientation étiologique, dont les données épidémiologiques, l'âge postnatal, le terme et la présence des signes de gravité [104]. Il tient compte également de prélèvement vaginal et des prélèvements périphériques, s'ils sont disponibles, et du bilan biologique initial [75].

- En absence des signes de gravité (troubles hémodynamiques, neurologiques, détresse respiratoire), l'antibiothérapie probabiliste consiste en l'association de deux antibiotiques (β -lactamine + aminoside) [81]: Amoxicilline et Gentamicine chez le nouveau né à terme, Céfotaxime et Gentamicine chez un prématuré[75].
- En présence des signes de gravité ou si la mère a reçu une antibiothérapie prolongée récente, une triple combinaison Ampicilline/Amoxicilline + Céfotaxime et Aminoside est recommandée [81].
- En cas d'isolement chez la mère (prélèvement vaginal) ou chez le nouveau né (prélèvement gastrique) d'*E.coli* BLSE ou d'un séjour récent dans un pays à risque de bactéries multi-résistantes, une association (méropénème + aminoside) est envisagée[75].

Les posologies sont adaptées en fonction de l'âge, du poids de l'enfant ainsi que la maturation rénale et la demi-vie des antibiotiques [104].

2.2 Adaptation de l'antibiothérapie

L'antibiothérapie est adaptée après 24 à 48 heures en fonction des résultats du bilan clinique, bactériologique et biologique [81].

En absence de germe, le traitement doit être interrompu, il sera poursuivi en monothérapie (β -lactamine), uniquement si l'évolution clinicobiologique confirme l'hypothèse infectieuse[75].

Dans les autres cas, le traitement sera adapté en fonction de la localisation d'infection et de la sensibilité de germe [104].

- Le traitement de méningite à l'*E.coli* associe le Céfotaxime (200 mg/kg/j) pendant 21 jours au minimum et Gentamicine (3 à 5 mg/kg/j) pendant 5 à 10 jours.
L'adjonction de Ciprofloxacine à une posologie de 10 mg/kg \times 2/j dans la première semaine de vie et 10 mg/kg \times 3/j au-delà, pendant quatre à cinq jours, semble réduire la fréquence des complications neurologiques [105]. La durée de traitement étant adaptée selon l'évolution clinique. Une ponction lombaire de contrôle est systématiquement réalisée à 24 jusqu'à 48 heures, ainsi qu'un suivi neurologique attentif.
- Le traitement des bactériémies à *E.coli* fait appel à l'Amoxicilline ou Céfotaxime selon le résultat de l'antibiogramme, pour une durée de 10 à 14 jours.
- Le traitement des infections à *E.coli* BLSE repose sur l'association du Meropénème (20–40 mg/kg par huit heures injecté en intraveineux sur 60 minutes au moins), et l'Amikacine

(30–35 mg/kg par injection, espacées de 24-48 heures selon l'âge gestationnel). L'avis d'un spécialiste en infectiologie est souhaitable [104].

Chapitre 6 : Objectifs

1 Objectif principal

Etudier le profil de résistance aux antibiotiques de la souche Escherichia coli K1 dans les ECBU et les prélèvements chez les femmes enceintes à l'unité Hassiba Benbouali CHU –Blida.

2 Objectifs secondaires

- 1- Evaluer la prévalence du portage vaginal et néonatal de la souche E.coli K1.
- 2- Déterminer les facteurs de risque associés au portage vaginal d'Escherichia coli.
- 3- Proposer des traitements adaptés aux septicémies néonatales et aux IU materno-fœtales.

Chapitre 7 : Matériels et méthodes

1 Matériel

1.1 Population d'étude

1.1.1 Critères d'inclusion

Dans notre étude, on a inclus toutes les femmes enceintes qui se sont présentées au service de gynécologie à l'unité Hassiba Ben Bouali et dont la pathologie (le plus souvent pour menace d'accouchement prématuré ou rupture prématurée des membranes) nécessitait un PV et ECBU.

Les femmes enceintes hospitalisées en Grossesse à Haut Risque et dont la prise en charge nécessitait un PV et ECBU.

Enfin, chez les femmes enceintes qui consultaient au suivi intensif de grossesse et dont un PV et un ECBU ont été réalisés.

1.1.2 Critère d'exclusion

Dans notre étude ont été exclues toutes les patientes n'ayant pas bénéficié d'une analyse bactériologique des urines ou pour lesquelles les résultats des ECBU n'ont pas été retrouvés (données manquantes)

1.1.3 Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU)

Les conditions de recueil étaient optimales afin de ne pas interférer avec la qualité et les performances de l'analyse. Des urines fraîchement émises ont été recueillies dans un récipient stérile durant les premières heures de la journée en évitant de recueillir le premier jet pour éviter un faux positif lié aux souillures.

La cytologie a été effectuée à l'état frais dans une cellule de numération. Un microscope avec un objectif x25 a été utilisé pour l'observation.

1.1.4 Prélèvement vaginal

Des écouvillons vaginaux ont été prélevés à l'aide d'un coton-tige stérile par une infirmière sous la supervision du Gynécologue en utilisant le spéculum de la paroi vaginale inférieure. Les écouvillons ont été immédiatement placés dans le support de transport de Stuart et transporté au laboratoire dans la chambre température dans les 5-6 heures.[103]

1.1.5 Souche à isoler

Les échantillons ont été traités immédiatement pour une analyse bactériologique des urines et des prélèvements vaginaux.

1.2 Etude bactériologique

1.2.1 Mise en culture

Les échantillons recueillis ont étéensemencés directement sur gélose Hektoen, dans les milieux liquides, et sur la Gélose au Sang Frais. Ils ont été incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

1.2.2 Identification

Les échantillons transportés ont été étalés sur de la gélose MacConkey et incubé en aérobiose à 37 ° C pendant 24 heures. Les isolats ont été identifiés en fonction de :

- Leurs caractères morphologiques: dénombrement des colonies, aspect, coloration de Gram.
- Leurs caractères cultureux sur milieu Hektoen : tests biochimiques standards (Lactose ; voie de fermentation ; Citrate de Simmons ; production de gaz ...etc)
- Leurs caractères biochimiques: Les colonies suspectes ont été repiquées dans une mini galerie (citrate de Simmons , eau peptonée exempte d'indole) puis incubées à 37° C pendant 18 à 24 heures.
- Leurs caractères antigéniques: recherche de l'antigène K1 à l'aide d'un test d'agglutination au latex (PASTOREX-MENINGITIS BIORAD) après le ré isolement de la souche bactérienne.

Tous les milieux pour les tests biochimiques ont été obtenus auprès du laboratoire de bactériologie du CHU Hassiba Ben Bouali.

1.2.3 Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques a été évaluée par la technique de diffusion en milieu gélosé de Muller-Hinton selon les normes CLSI.

Le matériel utilisé pour la réalisation de l'étude bactériologique se trouve en annexe IV.

2 Méthode

2.1 Type et période d'étude

L'étude prospective s'est déroulée entre octobre 2019 et août 2020 pour les ECBU

Echantillons : 240 ECBU de femmes enceintes pour analyse bactériologique.

PV : 19 PV de femmes enceintes.

2.2 Lieu d'étude

Notre étude s'est déroulée dans le laboratoire de microbiologie à l'unité Hassiba Ben Bouali CHU –Blida-.

2.3 Collecte des données

Les données ont été extraites des registres d'analyse microbiologique.

Les éléments suivants ont été recherchés :

- Les renseignements sur les patientes: âge; terme de grossesse; facteur de risque (RPM; MAP)
- Résultat de culture (Recherche et identification d'Escherichia coli k1).
- Résultat de l'antibiogramme.

2.4 Traitement des données

L'analyse statistique des données est réalisée à partir d'une base de données créée sur Excel Microsoft 2013.

Chapitre 8 : Résultats et discussion

1 Résultats :

1.1 Description de la population

Nous présentons ci-dessous les caractéristiques des gestantes incluses dans notre étude. Il s'agit tout d'abord d'une répartition selon l'âge, puis selon le terme de grossesse et les facteurs de risques maternels.

1.1.1 Répartition des gestantes selon l'âge

La population d'étude était composée de 240 femmes enceintes dont la moyenne d'âge est 30 ans, avec des extrêmes allant de 17 à 45 ans.

Le tableau ci-dessous renseigne sur la répartition des femmes enceintes selon l'âge.

Tableau 3 Répartition des femmes enceintes selon l'âge

Age (ans)	Effectif	Pourcentage %
< 20	12	5
20-30	153	63.7
31-40	57	23.75
> 40	18	7.5
Total	240	100

Nous avons observé que les gestantes âgées entre **20-40 ans** représentaient la majorité de la population avec un pourcentage de **87,45 %**, tandis que 7.5% avaient plus de 40 ans et seulement 5% avaient moins de 20 ans.

1.1.2 Répartition des gestantes selon le terme de grossesse

Au cours de notre étude, l'âge gestationnel variait entre **17 SA+4j** et **41 SA +6j**. Le tableau suivant montre la répartition des femmes enceintes en fonction des trimestres de grossesse.

Tableau 4 Répartition des femmes enceintes selon l'âge gestationnel

Trimestre de grossesse	Effectif	Pourcentage %
1^{er} trimestre	0	0
2^{ème} trimestre	22	9.16
3^{ème} trimestre	180	75
Non renseigné	38	15.8
Total	240	100

Note : 1^{er} trimestre (1-14SA), 2^{ème} trimestre (15-29SA), 3^{ème} trimestre (30-42 SA).

On a constaté d'après le tableau ci-dessus que les gestantes au dernier trimestre de grossesse étaient majoritaires avec 180 cas (soit **75%**), contre 22 cas (soit 9.16%) au deuxième trimestre de grossesse, et aucune gestante au premier trimestre de grossesse. Concernant les gestantes sans renseignements, on a enregistré 38 cas (soit 15.8%).

1.1.3 Répartition des gestantes selon les facteurs de risques maternels

Le tableau ci-dessous informe sur la répartition des femmes enceintes en fonction des facteurs de risques maternels.

Tableau 5 Répartition des femmes enceintes selon les facteurs de risques

Facteurs de risques	n	%
RPM	195	81.25
MAP	20	8.33
RAS	10	4,16
Non renseigné	15	6,25
Total	240	100

Note : RPM : Rupture prématurée des membranes; MAP : Menace d'accouchement prématuré ; RAS : Rien à signaler.

On a noté à partir de ce tableau que :

- La rupture prématurée des membranes (RPM) était majoritaire avec un pourcentage de **81.25%**.
- La menace d'accouchement prématuré (MAP) n'était présente que chez 20 gestantes, soit 8,33% des gestantes
- On a noté que 10 femmes (soit 4,16 %) n'ont eu aucune complications lors de leur grossesse.
- Les gestantes dont les renseignements manquaient étaient au nombre de 15, avec un pourcentage de 6,25%.

1.2 Taux de positivité des ECBUs chez les femmes enceintes

Les résultats des cultures des ECBUs effectuées sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 Fréquence de positivité des ECBUs chez les femmes enceintes

ECBUs	n	%
Culture positive	92	38.33%
Culture négative	148	61.16%
Total	240	100

On a remarqué que parmi les 240 ECBUs réalisées, 92 se sont révélés positifs, représentant un pourcentage de **38.33%**, alors que 148 cultures se sont révélées négatives avec un pourcentage de 61.16%.

1.2.1 Bactériologie des ECBUs

Le tableau en bas représente les différents isolats identifiés dans les ECBUs réalisés, ainsi que leurs fréquences.

Tableau 7 Bactériologie des ECBUs

Germe	Effectif	Pourcentage %
<i>Escherichia coli</i>	68	73.91
Autres*	24	26.08
Total	92	100

Autres : Streptocoque de groupe A, Streptocoque de groupe B, Klebsiella pneumoniae.*

D'après les résultats présentés dans ce tableau, nous avons remarqué que parmi les 92 germes isolés, *Escherichia coli* était l'espèce bactérienne prédominante avec un pourcentage de **73.91 %**.

Nous avons constaté également la présence d'autres agents pathogènes tels que les bacéries du genre *Streptococcus* (du groupe B, et du groupe A), ainsi que *Klebsiella pneumoniae* et cela à un pourcentage de **26.08 %**.

1.2.1.1 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli* selon l'âge

Le tableau ci-dessous décrit la fréquence d'isolement d'*Escherichia coli* en fonction de l'âge des gestantes.

Age (ans)	Effectif	Pourcentage %
<20	10	14,7

20-30	41	60,29
31-40	11	16,17
>40	6	8,89
Total	68	100

Tableau 8 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon l'âge des gestantes

On a remarqué que les gestantes âgées entre 20-40 ans avaient le plus grand pourcentage de positivité à *Escherichia coli* avec **76,46 %**.

1.2.1.2 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli* selon le terme de grossesse des gestantes

Le tableau ci- dessous décrit la fréquence d'isolement d'*E.coli* en fonction de l'âge de grossesse des gestantes.

Trimestre de grossesse	Effectif	Pourcentage %
1^{er} trimestre	0	0
2^{ème} trimestre	6	8,8
3^{ème} trimestre	51	75
Non renseigné	11	16,7
Total	68	100

Tableau 9 Répartition des ECBUs positifs à E.coli selon le terme de grossesse

Nous avons observé que les ECBUs à *E.coli* sont majoritairement positifs durant le 3^{ème} trimestre de grossesse avec un pourcentage de **75%**.

1.2.1.3 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli* selon les facteurs de risques maternels

Les résultats des cultures des ECBUs ainsi que leur répartition selon les facteurs de risques maternels ont été présentés dans le tableau 10.

Facteurs de risques	n	%
RPM	49	72
MAP	10	14,7
RAS	5	7,3

Facteurs de risques	n	%
RPM	12	50
MAP	9	37,5
RAS	1	4,17

Non renseigné	4	5,3
Total coli	68	100

Tableau 10 Répartition des ECBUs positifs à *E.coli* selon les facteurs de risque maternel

N R	2	8.3
Total Non E.coli	24	100

Tableau 11 Répartition des ECBUs positifs non coli selon les facteurs de risque maternel

On a noté des taux d'isolement élevés d'*Escherichia coli* chez les femmes enceintes présentant des complications par rapport aux autres, soit **72%** chez des gestantes avec RPM contre **14,7 %** chez des gestantes avec MAP

Tandis que seulement 7,3% des gestantes dont les ECBUs sont positifs à *E.coli* n'ont eu aucune complication lors de leur grossesse.

1.2.1.4 Etude de la relation entre les facteurs de risques (RPM/MAP) et la positivité des ECBUs à *Escherichia coli*

	E coli +	E coli -	Total
RPM +	49 (45.08)	12(15.91)	61
RPM -	19(22.91)	12(8.08)	31
Total	68	24	92

Tableau 13 Etude de la relation entre les RPM et la positivité des ECBUs à *E.coli*

	E coli+	Ecoli-	Total
MAP+	10(14.04)	9(5)	19
MAP-	58(53.95)	15(19.04)	73
Total	68	24	92

Tableau 12 Etude de la relation entre les MAP et la positivité des ECBUs à *E.coli*

45.08* est l'effectif théorique correspondant à 49 selon le calcul : $(45.08 = 61 * 68 / 92)$

Les effectifs théoriques calculés doivent être supérieurs à 5 pour remplir les conditions de calcul du Khi-Deux selon la formule suivante :

$$X^2(RPM) = (49-45.08)^2/45.08 + (12-15.91)^2/15.91 + (19-22.91)^2/22.91 + (12-8.08)^2/8.08 = 3.87$$

$$X^2(MAP) = (10-14.04)^2/14.04 + (9-5)^2/5 + (58-53.95)^2/53.95 + (15-19.04)^2/19.04 = 5.52$$

L'analyse statistique **Khi-Deux** a démontré que la présence d'une **RPM** et la présence de **MAP** sont un facteur de risque favorisant la positivité des ECBUs à *Escherichia coli* chez les femmes enceintes avec respectivement un $p = 0.05$ et un $p = 0.025$.

1.3 Fréquence d'isolement d'*Escherichia coli* K1

Le test d'agglutination à la recherche de l'antigène K1 a été effectué sur l'ensemble des souches d'*Escherichia coli* isolées (68 ECBUs positifs à *Escherichia coli*)

Le tableau suivant donne le taux d'isolement d'*Escherichia coli* K1 chez l'ensemble des femmes enceintes incluses dans notre étude.

Tableau 14 Prévalence globale de l'isolement d'*Escherichia coli* K1

	Effectif	Pourcentage %
Présence d'<i>Escherichia coli</i> K1	42	17.5
Absence d'<i>Escherichia coli</i> K1	198	82.25
Total	240	100

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus ont montré que parmi les 240 ECBUs étudiés, **42** souches se sont révélées positives à *Escherichia coli* K1, correspondant à un taux d'isolement dans l'ensemble des ECBUs effectués de **17.5%**.

1.3.1 Fréquence d'isolement de l'*Escherichia coli* K1 dans les ECBUs positifs

	Effectif	Pourcentage
Ecbu positif à E coli k1	42	45.6
Ecbu positif (autre qu'E. coli k1)	50	54.4

Total	92	100
--------------	----	-----

Tableau 15 Taux d'isolement de coli K1 dans les ECBUs positifs

Les résultats présentés dans ce tableau ont révélé que parmi les 92 ECBUs positifs, **42** souches étaient positives à l'*Escherichia coli K1*, ce qui correspond à un taux d'isolement dans les ECBUs positifs de **45.6 %**.

1.3.2 Taux d'isolement d'*Escherichia coli K1* dans les ECBUs positifs à *Escherichia coli*

Le tableau suivant renseigne sur le taux d'isolement d'*Escherichia coli K1* chez les femmes enceintes dont les ECBUs sont positifs à *Escherichia coli*.

Tableau 16 Taux d'isolement de coli K1 dans les ECBUs positifs à *Escherichia coli*

	Effectif	Pourcentage %
<i>E.Coli K1</i> positif	42	61,7
<i>E.Coli non k1</i> positif	26	38,2
Total	68	100

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus ont montré que parmi les 68 ECBUs positifs à *Escherichia coli*, **42** souches étaient positives à l'*Escherichia coli K1*, ce qui correspond à un taux d'isolement dans les ECBUs positifs à *Escherichia coli* de **61.7 %**. Ceci justifie la recherche systématique de l'antigène K1 devant toute espèce *E.coli* isolée chez une femme enceinte ou un nouveau-né.

1.3.3 Répartition des ECBUs positif à *Escherichia coli K1* selon L'âge

Le tableau ci-dessous décrit la fréquence d'isolement d'*E.coli K1* en fonction de l'âge des gestantes.

Tableau 17 Répartition d'*Escherichia coli K1* selon l'âge.

	<20		20-40		>40		Total
	n	%	n	%	n	%	n
coli k1	0	0	39	92.8	3	7.2	42

On a noté que les gestantes âgées entre **20-40 ans** avaient un taux d'isolement significatif, soit de **92.8 %**.

1.3.4 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli K1* selon le terme de grossesse

Le tableau 18 donne la fréquence d'isolement d'*E.coli K1* selon l'âge gestationnel des patientes.

Trimestre de grossesse	1 ^{ère} trimestre		2 ^{ème} trimestre		3 ^{ème} trimestre		Non renseigné		Total
	n	%	n	%	N	%	n	%	
<i>E.coli k1</i>	0	0	6	14.3	31	73.8	5	11.9	42

Tableau 18 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli K1* selon l'âge gestationnel

On a observé qu'*Escherichia coli K1* était fréquemment isolée chez les gestantes au 3^{ème} trimestre de grossesse avec un pourcentage de **73.8%**, par rapport au 2^{ème} trimestre de grossesse (**14.3%**). Ce qui justifie la recherche systématique des Bactéries à Haut Risque Néonatal (BHRNN) à partir du Troisième trimestre de grossesse.

1.3.5 Répartition des ECBUs positifs à *Escherichia coli K1* selon les facteurs de risques maternels

Le tableau ci-dessous indique la répartition des ECBUs positif à *E.coli K1* selon la présence de facteurs de risques maternels chez les gestantes.

	RAS		RPM		MAP		Non renseigné		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	
coli k1	1	2.4	36	85.7	3	7.1	2	4.8	42

Tableau 19 Répartition d'*Escherichia coli* K1 selon les facteurs de risque maternel.

On a noté des taux d'isolement élevés d'*Escherichia coli* K1 chez les femmes enceintes présentant des complications par rapport aux autres, soit **85.7%** chez des gestantes avec RPM contre **7.1 %** chez des gestantes avec MAP.

Tandis que seulement 2.4% des gestantes dont les ECBUs sont positifs à *E.coli* K1 n'ont eu aucune complication lors de leur grossesse.

1.3.6 Résistance d'*Escherichia coli* K1 aux bêta-lactamines

Le tableau ci-dessous informe sur les taux de résistance d'*E.coli* K1 et non K1 aux bêta-lactamines testés.

Tableau 20 Répartition des *Escherichia coli* K1 et non K1 selon leurs résistances aux bêta-lactamines

Antibiotique	<i>Escherichia coli</i> K1 (n=42)		<i>E coli</i> non (n=26)
	n	%	n
Ampicilline	26	61.9	23
Amoxicilline	27	64.28	23
Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	3	7.1	10
Céphalosporine de 3 ^{ème} génération	0	0	0
Imipinème	0	0	0

D'après les résultats obtenus, les *Escherichia coli* K1 ont présenté une résistance à l'Ampicilline, à l'Amoxicilline, et aux Céphalosporines de 1^{ère} Génération. Avec les pourcentages respectifs de **61,9%**, **64,28%** et **7,1%**.

Les céphalosporines de 3^{ème} Génération se sont révélées efficaces à **100%**.

Aussi, les souches K1 isolées étaient sensibles à **100%** aux Imipénèmes.

Les résultats du tableau ont également montré que les *Escherichia coli* non K1 ont présenté une résistance à l'Ampicilline, à l'Amoxicilline, et aux Céphalosporines de 1^{ère} Génération tout aussi importante que les *Escherichia coli* K1.

Les Céphalosporines de 3^{ème} Génération se sont également révélées efficaces à 100% contre les *Escherichia coli* non K1.

Les souches isolées non K1 étaient aussi sensibles à 100% aux Imipénèmes.

2 Discussion

Malgré les progrès réalisés dans la prise en charge des nouveaux nés et des enfants prématurés, les infections néonatales à *Escherichia coli* restent responsables d'un taux de mortalité élevé, ainsi que de séquelles neurologiques importantes [74].

À travers notre étude, nous avons essayé d'évaluer globalement le taux d'isolement d'*Escherichia coli K1* en plus de son profil de résistance aux antibiotiques chez des femmes enceintes à différents stades évolutifs de leur grossesse.

Nous avons également évalué le taux d'isolement d'*Escherichia coli non K1* chez ces femmes enceintes.

Notre population est composée de **240** patientes qui ont bénéficié d'ECBUs au niveau du laboratoire d'analyses bactériologiques au CHU de Hassiba Ben Bouali à Blida. La période d'étude était du mois d'octobre 2019 au mois d'août 2020.

Nous avons noté dans les ECBUs effectués un taux de positivité égal à **38.33%** se traduisant par 92 ECBUs dans la population étudiée.

Ceci est en accord avec une étude faite à l'Unité Hassiba Ben Bouali à Blida par Pr S.Oukid [106], qui a montré que les ECBUs négatifs étaient majoritaires chez les femmes enceintes.

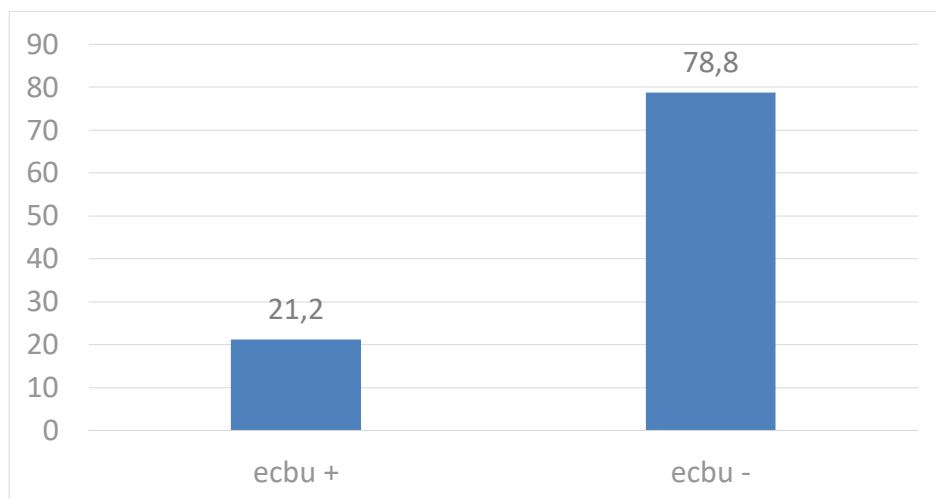


Figure 38 Taux de positivité des ECBUs (étude faite par Pr S.OUKID à l'unité Hassiba Ben Bouali, N=71)

La bactérie *Escherichia coli* a constitué l'essentiel des germes identifiés avec un pourcentage de **73.91 %** soit 68 ECBUs positifs à *E.coli*.

Tandis que les autres germes, à savoir les *Streptocoques du groupe A, et B*, et *Klebsiella pneumoniae* ont été isolés avec un pourcentage de **26.08 %**.

Des résultats similaires aux nôtres ont été rapportés dans deux études, ayant montré que les *Escherichia coli* étaient majoritaires dans les examens cytobactériologiques des femmes enceintes.

La première étude a été faite à l'Unité Hassiba en Ben Bouali par Pr S.OUKID 2015.

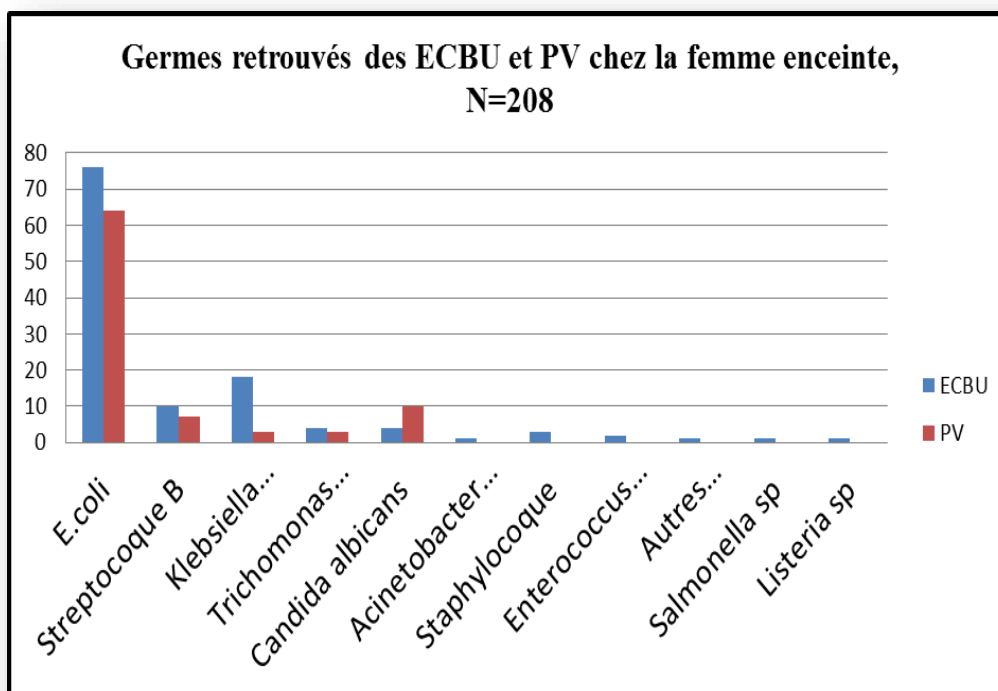


Figure 39 Bactériologie des ECBUs chez les femmes enceintes, étude faite par Pr. Oukid à l'unité Hassiba Ben Bouali, N=208[106]

La deuxième étude a été faite par Emanuelle ROUX à Nantes, France.

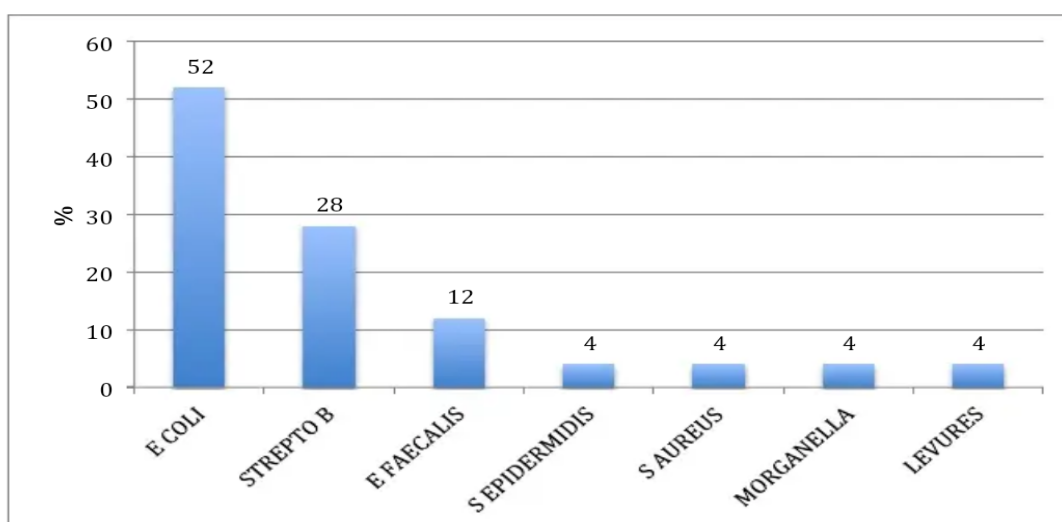


Figure 40 Bactériologie des ECBUs chez les femmes enceintes, étude française faite par Emmanuelle ROUX en 2015 N=108. [107]

Concernant le sérotype K1, nous avons retrouvé dans l'ensemble de la population étudiée une prévalence d'*Escherichia coli* K1 de 17.5% à partir des ECBUs des gestantes.

La comparaison de ces résultats avec les données de littérature était limitée à cause du manque de travaux sur l'isolement d'*Escherichia coli K1* dans les ECBUs chez les femmes enceintes et à cause de la découverte récente du pouvoir pathogène du sérotype K1.

Dans les 68 ECBUs positifs à *Escherichia coli*, les femmes gestantes âgées entre **20-40 ans** ont présenté un taux d'isolement d'*Escherichia coli* important (**76,46%**) par rapport aux femmes enceintes d'âges inférieurs à 20 ans et supérieurs à 40 ans. Ceci s'ajoute à ce qui a été rapporté antérieurement dans les travaux réalisés sur l'isolement de Bactéries à Haut Risque Néonatal (BHRNN).

D'une autre part, parmi les 42 ECBUs positifs à *Escherichia coli K1*, les femmes enceintes âgées entre **20-40 ans** ont présenté un taux d'isolement d'*Escherichia coli K1* important également (**92,8%**) par rapport aux femmes enceintes d'âges inférieurs à 20 ans et supérieurs à 40 ans.

L'explication tient au fait que différents facteurs peuvent influencer l'isolement des BHRNN; en passant par l'activité sexuelle, l'alimentation, les mauvaises habitudes d'hygiène intime, la contraception inadaptée, la grossesse, ainsi que la prise d'antibiotiques [108].

Concernant l'âge gestationnel des patientes, le taux d'isolement des *Escherichia coli* était élevé au Troisième trimestre de grossesse comparé aux autres termes, avec un pourcentage de **75%**.

Ceci est en accord avec une étude faite par E.ROUX en France [107] qui a montré que les gestantes au troisième trimestre de grossesse avaient le pourcentage le plus élevé des ECBUs positifs à *Escherichia coli*.

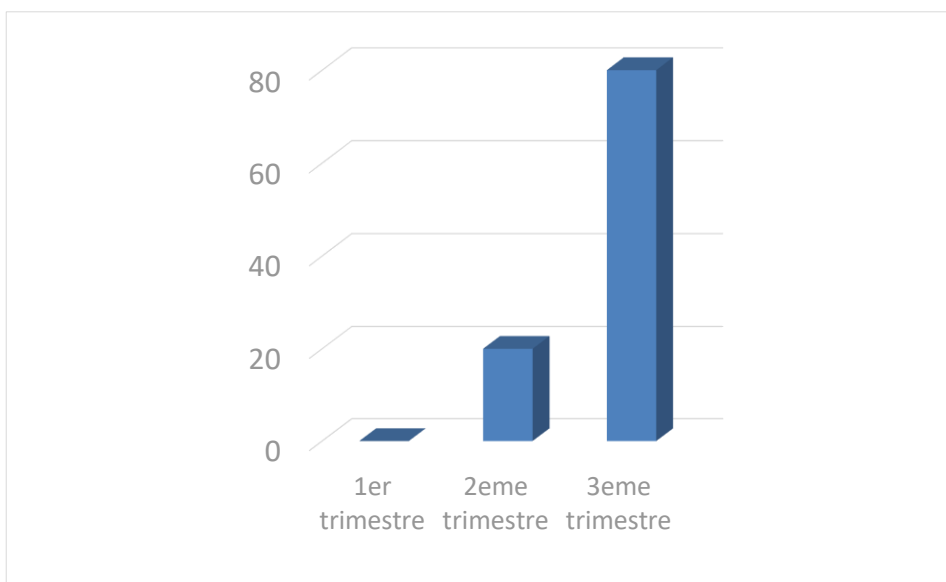


Figure 41 Répartition des ECBUs positifs à *E.coli* selon le terme de grossesse, étude faite en France par E. Roux en 2015, N=108.

D'une autre part, cette étude prospective a révélé que le taux d'isolement des *Escherichia coli K1* était aussi élevé au Troisième trimestre de grossesse, soit **73,8%** comparé aux deux autres termes.

Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres auteurs dans différents pays :

Les études de Pr S.OUKID (Algérie) [106] et E.ROUX (France) [107] entre l'année 2015 et 2017 ont également révélé une fréquence d'isolement significative de BHRNN dont *Escherichia coli K1* chez les femmes enceintes au dernier trimestre de grossesse.

Notre étude souligne une association significative entre la présence de facteurs de risques infectieux (RPM, MAP) et la positivité des ECBUs à *Escherichia coli*. En effet, Il a été constaté qu'*Escherichia coli* a été isolée à un taux supérieur, soit **72%** en présence de RPM.

La même remarque concerne le sérotype K1. On a constaté qu'il y a une relation entre la présence de facteurs de risques infectieux et la positivité des ECBUs à *E.coli K1*. Il a été noté un pourcentage d'isolement d'*E.coli K1* élevé à **85,7** chez les gestants avec une RPM.

Ceci est en accord avec une étude faite à l'Unité Hassiba Ben Bouali par Pr S.Oukid en 2015 sur la recherche de bactérie à haut risque néonatal chez la femme enceinte, et qui a montré que la RPM est le facteur de risque majoritaire. (N=212)

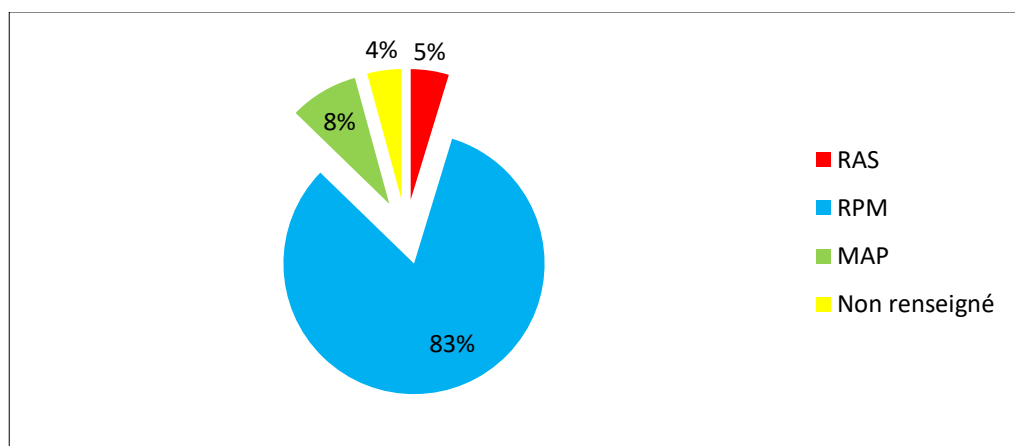


Figure 42 Répartition des femmes enceintes selon les facteurs de risque (étude faite par Pr S.OUKID à l'unité Hassiba Ben Bouali de la wilaya de Blida en 2015, N=212[106])

Par ailleurs, l'analyse statistique suivant la loi de **Khi-Deux** a démontré que la présence d'une rupture prématurée des membranes (RPM) ainsi que la présence de menace d'accouchement prématuré (MAP) sont des facteurs de risques favorisant la positivité des ECBUs à *Escherichia coli* avec respectivement $p=0,05$ et $p=0,025$.

En addition aux notes précédentes, cette étude a confirmé le caractère inquiétant de l'évolution de la résistance d'*Escherichia coli* aux Bêta-lactamines.

Des résultats similaires rapportés par l'étude de KENKOUO Guy Albert au niveau du laboratoire d'analyse microbiologique au Cameroun en 2008 [109], qui a montré qu'*Escherichia coli* était résistante aux Bêta-lactamines dont l'Amoxicilline et l'Ampicilline.

Antibiotique	Intermédiaire	Résistant	Sensible
AMO	1,8	85,8	12,4
AMC	25,6	51	23,4

Tableau 21 : Centre Pasteur du Cameroun, 2008 N=5955

En parlant du sérotype K1, les résultats de notre étude ont également confirmé l'évolution de la résistance d'*Escherichia coli* K1 aux Aminopénicillines dont l'Amoxicilline et l'Ampicilline.

Des résultats comparables ont été retrouvés dans différents pays :

- Dans l'étude de Sàez-Lopez et al en 2016 (Barcelone) [110], qui a révélé un taux de résistance de 59% des *Escherichia coli* K1 aux Aminopénicillines.

- Dans l'étude de Mariani-Kurdjian (France)[20], qui a révélé un taux de résistance de 4,6% des *Escherichia coli* K1 Céphalosporines de 3^{ème} Génération.

Toutefois, une bonne sensibilité aux Imipénèmes a été notée chez toute l'espèce *Escherichia* (K1 ou non). Ce constat est partagé par d'autres auteurs avec des taux de résistances variables.

Dans ce contexte, l'utilisation des Céphalosporines de 1^{ère} Génération en première intention dans le traitement prophylactique ou curatif des infections bactériennes pendant la grossesse ou des infections néonatales à *Escherichia coli* semble être efficace, permettant ainsi de ralentir l'émergence des résistances aux antibiotiques ; notamment la diffusion des bactéries productrices de BLSE qui constituent une problématique majeure au niveau communautaire et hospitalier. Cette diffusion qui est encouragée par la prescription abusive des Céphalosporines de Troisième génération.

Toutes ces données recueillies signifient que l'Examen CytoBactériologique des Urines (ECBU) à la recherche de *Escherichia coli* au cours de la grossesse à partir du Troisième trimestre de grossesse et en présence de facteur de risques infectieux (RPM, MAP) est d'une importance cruciale pour l'évaluation du risque infectieux néonatal , et surtout pour améliorer les mesures préventives actuelles.

Conclusion générale

Ce mémoire présente l'étude effectuée à l'hôpital Hassiba Ben Bouali à Blida du mois d'octobre 2019 au mois d'août 2020. Dans le cadre de cette pratique, nous avons fait une étude rétrospective portant sur le profil de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* K1 de la famille des *Entérobactériacae* ainsi que la bactériologie des ECBUs réalisés au niveau du laboratoire de bactériologie du CHU Hassiba Ben Bouali. L'objectif principal de cette étude est de proposer des éléments à prendre en compte pour le dépistage et l'antibiothérapie des infections materno-fœtales à *Escherichia coli* K1. Nous avons exploité les données des registres du laboratoire de bactériologie afin d'en extraire les dossiers des gestantes.

Au cours de notre étude rétrospective, il a été rapporté un taux d'isolement d'*Escherichia coli* sérotype K1 de **45,6%** dans les ECBUs positifs qui étaient au nombre de **92/240**. Quant aux facteurs de risques, il a été noté que la RPM était la plus incriminée dans les ECBUs positifs à *Escherichia coli* K1, présentant un taux de **85,7%** chez les femmes enceintes entre 20 et 40 ans. Et suite aux résultats de l'antibiogramme réalisé qui nous a permis d'établir le profil de résistance d'*E.coli* K1 aux antibiotiques, nous avons trouvé que cette espèce révèle des taux variables de résistance aux Bêta-lactamines. D'une manière générale, *E.coli* K1 a une résistance prononcée à l'Amoxicilline ainsi qu'à l'Ampicilline, et une faible résistance aux Céphalosporines de 1^{ère} Génération dont la Céfazoline et la Céfalexine. Cependant, les Céphalosporines de 3^{ème} Génération ainsi que l'Imipénème se sont prouvés efficaces.

En raison de la découverte du pouvoir pathogène de la capsule K1 d'*Escherichia coli*, des stratégies de dépistage, de préventions et de traitements ont été développées. De cette étude ressortent les recommandations suivantes :

Il est recommandé de faire le dépistage d'*Escherichia coli* K1 systématiquement chez les femmes enceintes. Cette initiative constitue la prise en charge la plus efficace pour réduire l'incidence des infections à *E.coli* K1 chez les nouveaux nés. Le dépistage systématique du portage d'*Escherichia coli* K1 est fortement recommandé en fin de grossesse, soit entre la 34^{ème} et la 38^{ème} semaine d'aménorrhée [81].

Les antibiotiques à recommander pour le traitement empirique des infections materno-fœtales à *E.coli* K1 sont les Céphalosporines de 3^{ème} Génération telles que la Céfotaxime et la Céfixime, [111].

Les Fluoroquinolones devraient être remplacés par la Ciprofloxacine, la Triméthoprime est indiquée en dehors du T1, et les Sulfamides en dehors du T3 en raison des effets tératogènes.

Les mesures d'asepsie devraient être de rigueur à l'unité de néonatalogie et en maternité afin d'éviter toute possibilité de contamination.

Pour conclure, La recherche et l'exploration de la résistance de *l'Escherichia coli sérotype K1* est une étape indispensable dans la lutte contre l'antibiorésistance et l'amélioration des moyens de prophylaxie liés aux infections néonatales ; ce qui amène à la diminution du taux de mortalité des nouveau nés.

Néanmoins, notre étude nécessite d'être complétée par des études épidémiologiques et des travaux ciblant particulièrement la bactérie *Escherichia coli sérotype K1* dans les prélèvements vaginaux des gestantes, leurs ECBUs ainsi que ceux des nouveaux nés.

Liste des références bibliographiques citées dans le mémoire

- [1] B. Balaka, A. Agbèrè, A. Dagnra, S. Baeta, K. Kessie, et K. Assimadi, « Portage génital bactérien au dernier trimestre de la grossesse et infection néonatale précoce », *Arch. Pédiatrie*, vol. 12, n° 5, p. 514-519, mai 2005, doi: 10.1016/j.arcped.2005.02.010.
- [2] D. Kedy Koum, C. Exhenry, C.-I. Penda, V. Nzima Nzima, et R. E. Pfister, « Morbidité et mortalité néonatale dans un hôpital de district urbain à ressources limitées à Douala, Cameroun », *Arch. Pédiatrie*, vol. 21, n° 2, p. 147-156, févr. 2014, doi: 10.1016/j.arcped.2013.11.014.
- [3] P. Courvalin, « LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES : COMBINAISONS DE MÉCANISMES BICHIMIQUES ET GÉNÉTIQUES », *Bull. Académie Vét. Fr.*, n° 1, p. 7, 2008, doi: 10.4267/2042/47917.
- [4] J. Guillot, « Bases moléculaires et épidémiologiques de l'antibiorésistance bactérienne », p. 12.
- [5] S. M. Al-Mayahie, « Phenotypic and genotypic comparison of ESBL production by Vaginal Escherichia coli isolates from pregnant and non-pregnant women », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 12, n° 1, p. 7, 2013, doi: 10.1186/1476-0711-12-7.
- [6] M. Doret Dion, C. Cazanave, et C. Charlier, « Choix et durée de l'antibioprophylaxie en cas de rupture prématurée des membranes avant terme. RPC rupture prématurée des membranes avant terme CNGOF », *Gynécologie Obstétrique Fertil. Sénologie*, vol. 46, n° 12, p. 1043-1053, déc. 2018, doi: 10.1016/j.gofs.2018.10.017.
- [7] E. Sáez-López *et al.*, « Vaginal versus Obstetric Infection Escherichia coli Isolates among Pregnant Women: Antimicrobial Resistance and Genetic Virulence Profile », *PLOS ONE*, vol. 11, n° 1, p. e0146531, janv. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0146531.
- [8] K. Morcel, « Infection bactérienne maternofoetale (hors listériose) », p. 15.
- [9] S. Watt, P. Lanotte, L. Mereghetti, M. Moulin-Schouleur, B. Picard, et R. Quentin, « Escherichia coli Strains from Pregnant Women and Neonates: Intraspecies Genetic Distribution and Prevalence of Virulence Factors », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 41, n° 5, p. 1929-1935, mai 2003, doi: 10.1128/JCM.41.5.1929-1935.2003.
- [10] L. F. Chen, T. Chopra, et K. S. Kaye, « Pathogens Resistant to Antibacterial Agents », *Infect. Dis. Clin. North Am.*, vol. 23, n° 4, p. 817-845, déc. 2009, doi: 10.1016/j.idc.2009.06.002.
- [11] C. A. Batt, *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, 2014.
- [12] F. Denis et O. Barraud, *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson, 2011.
- [13] A. Bleibtreu, « Déterminants de la virulence extra-intestinale de Escherichia coli : de la microbiologie à la clinique », *J. Anti-Infect.*, vol. 18, n° 2, p. 45-51, juin 2016, doi: 10.1016/j.antinf.2016.01.008.
- [14] P. Bidet, S. Bonarcorsi, et E. Bingen, « Facteurs de pathogénicité et physiopathologie des Escherichia coli extra-intestinaux », *Arch. Pédiatrie*, vol. 19, p. S80-S92, nov. 2012, doi: 10.1016/S0929-693X(12)71279-4.
- [15] A. K. Patel, R. R. Singhania, A. Pandey, V. K. Joshi, P. S. Nigam, et C. R. Soccol, « ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS AND E. COLI | Introduction », in *Encyclopedia of Food Microbiology*, Elsevier, 2014, p. 659-666.
- [16] S. T. Shulman, H. C. Friedmann, et R. H. Sims, « Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician? », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 45, n° 8, p. 1025-1029, oct. 2007, doi: 10.1086/521946.
- [17] « Etymologia: Escherichia coli », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 21, n° 8, p. 1310-1310, août 2015, doi: 10.3201/eid2108.ET2108.
- [18] J. Vila *et al.*, « Escherichia coli : an old friend with new tidings », *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 40, n° 4, p. 437-463, juill. 2016, doi: 10.1093/femsre/fuw005.
- [19] M. L. Joly Guillou, « Avant-Propos: Escherichia coli », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2016, n° 486, p. 25-26, nov. 2016, doi: 10.1016/S1773-035X(16)30324-0.
- [20] P. Mariani-Kurkdjian et É. Bingen, « Physiopathologie et virulence des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines », *Réanimation*, vol. 21, n° 3, p. 268-279, mai 2012, doi: 10.1007/s13546-012-0481-x.
- [21] D. Liu, « Escherichia coli ☆ », in *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2014, p. B9780128012383023000.

- [22] A. Leimbach, J. Hacker, et U. Dobrindt, « E. coli as an All-Rounder: The Thin Line Between Commensalism and Pathogenicity », in *Between Pathogenicity and Commensalism*, vol. 358, U. Dobrindt, J. H. Hacker, et C. Svanborg, Éd. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 3-32.
- [23] P. M. Griffin et R. V. Tauxe, « The Epidemiology of Infections Caused by Escherichia coli O157:H7, Other Enterohemorrhagic E. coli, and the Associated Hemolytic Uremic Syndrome », p. 39.
- [24] V. Jarlier *et al.*, « Réseau BMR-Raisin Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France Résultats 2003 », p. 28.
- [25] Z. D. Blount, « The unexhausted potential of E. coli », *eLife*, vol. 4, p. e05826, mars 2015, doi: 10.7554/eLife.05826.
- [26] M. B. Sidiki *et al.*, « IDENTIFICATION DES SOUCHES D'Escherichia coli DANS LES SELLES EN RAPPORT AVEC LA MALNUTRITION A DIORO », p. 94, 2018.
- [27] « The Short Textbook of Medical Microbiology (Including Parasitology) by Satish Gupte - PDF Drive ». <http://www.pdfdrive.com/the-short-textbook-of-medical-microbiology-including-parasitology-e176389214.html> (consulté le août 18, 2020).
- [28] *et al* Avril, *Bactériologie clinique. 3ème édition - Henri Monteil, Henry Dabernat, Jean-Loup Avril, François Denis.* .
- [29] A. Benabdallah-khodja et Y. Hamlaoui, « Etude phénotypique de quelques souches d'Escherichia coli productrices des carbapénèmases », p. 41, juin 2016.
- [30] D. Alpha amadou, « Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire .pdf », déc. 06, 2013. <http://thesesups.ups-tlse.fr/2112/1/2013TOU30162.pdf> (consulté le août 18, 2020).
- [31] R. S. Coimbra, F. Grimont, P. Lenormand, P. Burguière, L. Beutin, et P. A. D. Grimont, « Identification of Escherichia coli O-serogroups by restriction of the amplified O-antigen gene cluster (rfb-RFLP) », *Res. Microbiol.*, vol. 151, n° 8, p. 639-654, oct. 2000, doi: 10.1016/S0923-2508(00)00134-0.
- [32] G. Stevenson, A. Kessler, et P. R. Reeves, « A plasmid-borne O-antigen chain length determinant and its relationship to other chain length determinants », *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 125, n° 1, p. 23-30, janv. 1995, doi: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07330.x.
- [33] D. Payros, « Etude de l'effet de la colonisation des nouveau-nés par des souches de Escherichia coli génotoxiques sur le développement et la fonctionnalité de la barrière intestinale », oct. 26, 2012. <http://thesesups.ups-tlse.fr/2639/1/2012TOU30356.pdf> (consulté le août 18, 2020).
- [34] de bactériologie service, « Bactériologie », mars 24, 2003. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf> (consulté le août 18, 2020).
- [35] N. Benlazar, « Profils de résistance aux quinolones de souches communautaires d'Escherichia coli », 2014. <http://dSPACE.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/7185/1/BENLAZAR-Nabila.pdf> (consulté le août 18, 2020).
- [36] E. Vimr, S. Steenbergen, et M. Cieslewicz, « Biosynthesis of the polysialic acid capsule in Escherichia coli K1 », *J. Ind. Microbiol.*, vol. 15, n° 4, p. 352-360, oct. 1995, doi: 10.1007/BF01569991.
- [37] I. Muhldorfer et W. Ziebuhr, « Escherichia coli in Urinary Tract Infections », p. 26, 2002.
- [38] P. A. D. Grimont, « Taxonomie des Escherichia », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 17, p. 6-10, mars 1987, doi: 10.1016/S0399-077X(87)80308-6.
- [39] DICOM_Jocelyne.M et DICOM_Jocelyne.M, « Syndrome hémolytique et urémique (SHU) », *Ministère des Solidarités et de la Santé*, août 18, 2020. <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuses/article/syndrome-hemolytique-et-uremique-shu> (consulté le août 18, 2020).
- [40] C. Bertholom, « Facteurs de virulence d'Escherichia coli: de l'urosepsis à la méningite chez le nouveau-né », *Option/Bio*, vol. 20, n° 413, p. 11, 2009.
- [41] P. Klemm et M. A. Schembri, « Bacterial adhesins: function and structure », *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 290, n° 1, p. 27-35, mars 2000, doi: 10.1016/S1438-4221(00)80102-2.
- [42] Y. Germani et C. Le Bouguéneq, « Diagnostic des Escherichia coli agents de diarrhée chez l'homme », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2008, n° 400, p. 67-76, 2008, doi: 10.1016/S1773-035X(08)80102-5.
- [43] R. A. Welch, « Uropathogenic Escherichia coli-Associated Exotoxins », *Microbiol. Spectr.*, vol. 4, n° 3, juin 2016, doi: 10.1128/microbiolspec.UTI-0011-2012.

- [44] S. Carle, « La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important! », vol. 42, p. 16, 2010.
- [45] S. P. Denyer, N. A. Hodges, et S. P. Gorman, *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*. John Wiley & Sons, 2008.
- [46] L. S. Tzouveleakis, A. Markogiannakis, M. Psychogiou, P. T. Tassios, et G. L. Daikos, « Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and Other Enterobacteriaceae: an Evolving Crisis of Global Dimensions », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 25, n° 4, p. 682-707, oct. 2012, doi: 10.1128/CMR.05035-11.
- [47] Y. Paitan, « Current Trends in Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* », in *Escherichia coli, a Versatile Pathogen*, vol. 416, G. Frankel et E. Z. Ron, Éd. Cham: Springer International Publishing, 2018, p. 181-211.
- [48] A. J. Mathers, G. Peirano, et J. D. D. Pitout, « *Escherichia coli* ST131: The Quintessential Example of an International Multiresistant High-Risk Clone », in *Advances in Applied Microbiology*, vol. 90, Elsevier, 2015, p. 109-154.
- [49] J. D. Pitout, « Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* : an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment », *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, vol. 10, n° 10, p. 1165-1176, oct. 2012, doi: 10.1586/eri.12.110.
- [50] Y.-Y. Liu *et al.*, « Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 16, n° 2, p. 161-168, févr. 2016, doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- [51] J. R. Johnson, B. Johnston, C. Clabots, M. A. Kuskowski, et M. Castanheira, « *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the Major Cause of Serious Multidrug-Resistant *E. coli* Infections in the United States », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 51, n° 3, p. 286-294, août 2010, doi: 10.1086/653932.
- [52] J. Edelsberg *et al.*, « Prevalence of antibiotic resistance in US hospitals », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 78, n° 3, p. 255-262, mars 2014, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.11.011.
- [53] V. Niranjana et A. Malini, « Antimicrobial resistance pattern in *Escherichia coli* causing urinary tract infection among inpatients », *Indian J. Med. Res.*, vol. 139, n° 6, p. 945-948, juin 2014.
- [54] F. Ørskov et I. Ørskov, « *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals », *Can. J. Microbiol.*, vol. 38, n° 7, p. 699-704, juill. 1992, doi: 10.1139/m92-115.
- [55] E. Masson, « Rôle protecteur de la flore de Doderlein », *EM-Consulte*. <https://www.em-consulte.com/article/114512/references/role-protecteur-de-la-flore-de-doderlein> (consulté le août 19, 2020).
- [56] « Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français », *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.*, vol. 34, n° 5, p. 513, sept. 2005, doi: 10.1016/S0368-2315(05)82867-4.
- [57] A. Delalande, « La vaginose bactérienne : facteurs de risques endogènes/exogènes et infection au papilloma virus associée », p. 172.
- [58] Bohbot, « Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français », *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.*, vol. 34, n° 5, p. 513, 2007, doi: 10.1016/S0368-2315(05)82867-4.
- [59] C. J. Priestley, B. M. Jones, J. Dhar, et L. Goodwin, « What is normal vaginal flora? », *Sex. Transm. Infect.*, vol. 73, n° 1, p. 23-28, févr. 1997, doi: 10.1136/sti.73.1.23.
- [60] D. A. Eschenbach *et al.*, « Influence of the Normal Menstrual Cycle on Vaginal Tissue, Discharge, and Microflora », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 30, n° 6, p. 901-907, juin 2000, doi: 10.1086/313818.
- [61] R. H.-P. Dhillon et J. Clark, « ESBLs: A Clear and Present Danger? », *Crit. Care Res. Pract.*, vol. 2012, p. 1-11, 2012, doi: 10.1155/2012/625170.
- [62] M. Massot, B. Picard, et E. Denamur, « Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2016, n° 486, p. 35-43, nov. 2016, doi: 10.1016/S1773-035X(16)30326-4.
- [63] « BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE ». <http://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2013/03/2016.1.pdf> (consulté le août 19, 2020).
- [64] R. A. Polin et the COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN, « Management of Neonates With Suspected or Proven Early-Onset Bacterial Sepsis », *PEDIATRICS*, vol. 129, n° 5, p. 1006-1015, mai 2012, doi: 10.1542/peds.2012-0541.
- [65] H. B. Jenson et B. H. Pollock, « Meta-analyses of the Effectiveness of Intravenous Immune Globulin for Prevention and Treatment of Neonatal Sepsis », *PEDIATRICS*, vol. 99, n° 2, p. e2-e2, févr. 1997, doi: 10.1542/peds.99.2.e2.
- [66] P. E, « Maladies infectieuses et tropicales ». 2016, [En ligne]. Disponible sur: <https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/epilly-trop/epillytrop2016.pdf>.

- [67] I. A. Sab, « Professeur de Pédiatrie A. ABOUSSAD Professeur de Pédiatrie M. BOUSKRAOUI Professeur de Pédiatrie H. ABBASSI Professeur de Gynécologie Obstétrique », p. 124, 2010.
- [68] M. Morin, C. Arnaud, L. Germany, et C. Vayssiere, « Grande prématurité : évolution de 1994 à 2006 », *Gynécologie Obstétrique Fertil.*, vol. 40, n° 12, p. 746-752, déc. 2012, doi: 10.1016/j.gyobfe.2012.05.007.
- [69] M. Ja, H. Be, O. Mjk, D. Ak, et D. P, « Births: Final Data for 2017 », *National vital statistics reports : from the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System*, nov. 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30707672/> (consulté le août 20, 2020).
- [70] opinion commitee, « committee-opinion-no-713-2017.pdf ». 2017, [En ligne]. Disponible sur: <https://sci-hub.se/10.1097/AOG.0000000000002237>.
- [71] A. Nyenga, O. Mukuku, et A. Mutombo, « Infections néonatales: quelle est la place des antécédents obstétricaux dans la prévention du risque ? » 2014.
- [72] R. D. Higgins *et al.*, « Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop », *Obstet. Gynecol.*, vol. 127, n° 3, p. 426-436, mars 2016, doi: 10.1097/AOG.0000000000001246.
- [73] M.-H. Blond, P. Poulain, F. Gold, E. Bingen, H. Watier, et R. Quentin, « Infection bactérienne maternofoetale », *EMC - Gynécologie-Obstétrique*, vol. 2, n° 1, p. 28-90, févr. 2005, doi: 10.1016/j.emcgo.2004.08.001.
- [74] C. Jost, P. Mariani-Kurkdjian, V. Biran, C. Boissinot, et S. Bonacorsi, « Intérêt des prélèvements périnataux dans la prise en charge des nouveau-nés suspects d'infections bactériennes précoces », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2015, n° 470, p. 43-53, mars 2015, doi: 10.1016/S1773-035X(15)30032-0.
- [75] Y. Aujard, « Infections néonatales bactériennes, mycosiques et parasitaires », *EM-Consulte*, 2015. <https://www.em-consulte.com/article/279591/infections-neonatales-bacteriennes-mycosiques-et-p> (consulté le août 20, 2020).
- [76] B. Branger, « // PREVALENCE AND CHARACTERISTICS OF EARLY PRENATAL CARE INTERVIEWS: RESULTS OF A SURVEY IN PERINATAL HEALTH NETWORKS, FRANCE, 2012 », p. 9, 2012.
- [77] « Matériel | Medilab Group ». https://www.medilab-group.eu/espace-professionnel/materiel_prelevement (consulté le août 23, 2020).
- [78] S. Berthélémy, « L'examen cytot bactériologique des urines », *Actual. Pharm.*, vol. 55, n° 556, p. 57-59, mai 2016, doi: 10.1016/j.actpha.2016.03.014.
- [79] *Insérer une sonde gastrique, légendes en Français*. 2013.
- [80] REMIC, « Examen bactériologique des prélèvements périnataux », 1998. <http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/16-PrLpr.pdf> (consulté le août 20, 2020).
- [81] ANAES, « Diagnostic et traitement curatif de l'infection bactérienne précoce du nouveau-né », 2002. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/recos-_inn-_mel_2006.pdf (consulté le août 20, 2020).
- [82] « Gérald AUBERT CHU Saint-Etienne - ppt télécharger ». <https://slideplayer.fr/slide/1581262/> (consulté le août 23, 2020).
- [83] « ECBU : examen cytot bactériologique des urines », *Santé sur le net*. <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/examens-medicaux/ecbu/> (consulté le août 23, 2020).
- [84] Biba, « Matériels et méthodes ECBU ». http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2083 (consulté le août 23, 2020).
- [85] I. Tanfour, « Conduite à tenir devant un LCR (Liquide Céphalo- Rachidien) purulent », *Memoire Online*, 2011. <https://www.memoireonline.com/02/13/6892/Conduite--tenir-devant-un-LCR-Liquide-Cephalo-Rachidien--purulent.html> (consulté le août 20, 2020).
- [86] « Cellule de Malassez - BIOLTROP ». <http://www.bioltrop.fr/spip.php?article360> (consulté le août 23, 2020).
- [87] « LE DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'UNE INFECTION BACTERIENNE I ». <http://www.microbes-edu.org/etudiant/diag1.html> (consulté le août 23, 2020).
- [88] A. Cherradi, « Infection Urinaire ». 2015, [En ligne]. Disponible sur: file:///C:/Users/lenovo/Downloads/Infection%20Urinaire%20_%20Profil%20de%20-%20CHERRADI%20Azhar_2697.pdf.
- [89] D. Clave, « FICHE TECHNIQUE : Escherichia coli ». EN.FTBAC. 07-09-17.01, nov. 13, 2015, [En ligne]. Disponible sur:

[https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Escherichia%20coli%20\(Editi%20n%202015\).pdf](https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Escherichia%20coli%20(Editi%20n%202015).pdf).

- [90] E. Gary et Kaiser, « BIOL 230 Lab Manual: Gram Stain of E. coli », 2017. <http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab6/gnrod.html> (consulté le août 23, 2020).
- [91] « Identification bactérienne ». <http://droguet-sebastien.e-monsite.com/pages/activites-technologiques-1ere-2015-2016/at20-identification-bacterienne.html> (consulté le août 23, 2020).
- [92] wellcogen, « Wellcogen™ N. meningitidis B / E. coli K1 ZL24/R30859502 », 2011. <http://unitylabservices.net/content/dam/tfs/SDG/MBD/MBD%20Documents/Instructions%20For%20Use/Wellcogen/N./meningitidis%20B/E.%20coli%20K1/X7712.pdf> (consulté le août 20, 2020).
- [93] zampaligre, « Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de Escherichia - Free Download PDF », 2012. https://nanopdf.com/download/profil-de-sensibilite-aux-antibiotiques-des-souches-de-escherichia_pdf (consulté le août 20, 2020).
- [94] « Détermination de la CMI et CMB par macrométhode en milieu liquide - ppt télécharger ». <https://slideplayer.fr/slide/512761/> (consulté le août 23, 2020).
- [95] A. Tankeshwar, « E-TEST (Epsilometer test): Principle, purpose, procedure, results and interpretations », *Learn Microbiology Online*, janv. 09, 2015. <https://microbeonline.com/e-test-epsilometer-test-principle-purpose-procedure-results-and-interpretations/> (consulté le août 23, 2020).
- [96] P. Judlin et O. Thiébauges, « La surveillance microbiologique de la femme enceinte : quels examens réaliser durant la grossesse ? », *Gynécologie Obstétrique Fertil.*, vol. 33, n° 11, p. 907-913, nov. 2005, doi: 10.1016/j.gyobfe.2005.08.019.
- [97] E. Menthonnex, « Menace d'accouchement prématuré », *EM-Consulte*, 2007. <https://www.em-consulte.com/article/220041/menace-d-accouchement-premature> (consulté le août 20, 2020).
- [98] et al Kayem, « Principales complications de la grossesse – Menace d'Accouchement Prématuré (MAP) et prématurité », 2016. http://campus.cerimes.fr/gynecologie-et-obstetrique/enseignement/item17_6/site/html/cours.pdf (consulté le août 20, 2020).
- [99] g Kayem, E. Lorthe, et M. Doret, « Prise en charge d'une menace d'accouchement prématuré », *EM-Consulte*, 2006. <https://www.em-consulte.com/article/1097398/article/prise-en-charge-d-une-menace-d-accouchement-premat> (consulté le août 20, 2020).
- [100] M. L. Floch et Oury, « La rupture prématurée des membranes avant 25 semaines d'aménorrhée: étude rétrospective réalisée au CHU de Caen entre 2003 et 2016 », p. 59, 2016.
- [101] V. Hentgen et R. Cohen, « Antibioprophylaxie maternelle et infection à bacille Gram négatif chez le nouveau-né », *Arch. Pédiatrie*, vol. 19, p. S135-S139, nov. 2012, doi: 10.1016/S0929-693X(12)71287-3.
- [102] D. Astruc, C. Zores, L. Dillenseger, C. Scheib, et P. Kuhn, « Prise en charge du risque infectieux néonatal chez l'enfant à terme ou proche du terme », *Arch. Pédiatrie*, vol. 21, n° 9, p. 1041-1048, sept. 2014, doi: 10.1016/j.arcped.2014.06.013.
- [103] Uptala Devi, B. Nabanita, barua Purnima, et malik Vinita, « Vaginal-Carriage-of-Antibiotic-Resistant-Escherichia-coli-by-Pregnant-Women-A-Concern-for-the-Neonate.pdf », 2014. https://www.researchgate.net/profile/Utpala_Devi/publication/275025230_Vaginal_Carriage_of_Antibiotic_Resistant_Escherichia_coli_by_Pregnant_Women_A_Concern_for_the_Neonate/links/559e29db08ae04e365091bd3/Vaginal-Carriage-of-Antibiotic-Resistant-Escherichia-coli-by-Pregnant-Women-A-Concern-for-the-Neonate.pdf (consulté le août 20, 2020).
- [104] J. Pierre-Henri, « Réanimation et soins intensifs en néonatalogie | Elsevier Masson », 2016. <https://www.elsevier-masson.fr/reanimation-et-soins-intensifs-en-neonatalogie-9782294739972.html> (consulté le août 20, 2020).
- [105] X. Durrmeyer, R. Cohen, E. Bingen, et Y. Aujard, « Stratégies thérapeutiques des méningites néonatales à Escherichia coli », *Arch. Pédiatrie*, vol. 19, p. S140-S144, nov. 2012, doi: 10.1016/S0929-693X(12)71288-5.
- [106] B. Ouchène et N. Chaouche, « RECHERCHE D'ESCHERICHIA COLI SEROYPE K1 DANS LES PRELEVEMENTS VAGINAUX DES FEMMES ENCEINTES ». 2017.
- [107] sF Roux, « rouxSF15 | Grossesse | Médecine clinique », *Scribd*, 2015. <https://fr.scribd.com/document/331326266/rouxSF15> (consulté le août 22, 2020).

- [108] R. Percival-Smith, K. H. Bartlett, et A. W. Chow, « Vaginal colonization of and its relation to contraceptive methods », *Contraception*, vol. 27, n° 5, p. 497-504, mai 1983, doi: 10.1016/0010-7824(83)90046-X.
- [109] G. A. Kenkouo, « Etude bactériologique des infections urinaires au Centre Pasteur du Cameroun », *Memoire Online*, 2008. https://www.memoireonline.com/07/08/1233/etude-bacteriologie-infections-urinaires-centre-pasteur-cameroun.html?fbclid=IwAR1wIcEcUeE5RK8M2z6Wfd_UOoMWUIhr3SfFoDgecFNSr4V91rc_2VM1BPE#_Toc200300436 (consulté le août 29, 2020).
- [110] E. Sáez-López *et al.*, « Characterization of Vaginal Escherichia coli Isolated from Pregnant Women in Two Different African Sites », *PLOS ONE*, vol. 11, n° 7, p. e0158695, juill. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0158695.
- [111] C. Charlier-Woerther, « Antibiotiques et grossesse », p. 14.

PLAN DES ANNEXES

- **Annexe I** : Galerie d'identification Api 20E.
- **Annexe II** : Procédures à suivre dans la détermination de l'antigène K1.
- **Annexe III** : Indication d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né symptomatique
- **Annexe IV** : Matériels du laboratoire.

Annexe I : Galerie d'identification API 20E

1-Ensemencement de la souche test

- On prend une colonie de notre souche ;
- On fait l'isolement par stries, dans une boîte de la gélose TSA ;
- Après on incube la boîte à 44°C pendant 24h ;
- Après incubation, on prépare 5ml d'un tube d'eau distillée stérile ;
- On prélève une colonie bien isolée sur le milieu TSA ;
- Enfin, on réalise une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

2-Préparation de la galerie

- On met de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, en éliminant l'excès d'eau en renversant la boîte au-dessus de l'évier ;
- Placer la galerie sur le fond de la boîte, elle doit être manipulée avec la pince ;

- Recouvrir la boîte avec son couvercle ;
- Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte.

3-Inoculation de la galerie

➤ On introduit la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe en appuyant à l'intérieur et sur le coté pour éviter la formation de bulles. Et on distingue 3 types de remplissage :

- Pour les tubes qui sont marqués par des caractères ni soulignés, ni encadrés. On remplit seulement le tubule.
- Pour ceux qui sont marqués par des caractères soulignés. On remplit seulement le tubule et on le ferme avec 3 gouttes d'huile de paraffine (ADH, LDC, ODC, H2S, UREE)
- Enfin pour les tubes qui sont marqués par des caractères encadrés, on remplit le tubule et la cupule (CIT, VP, GEL).

➤ On referme la boîte d'incubation et on place dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures

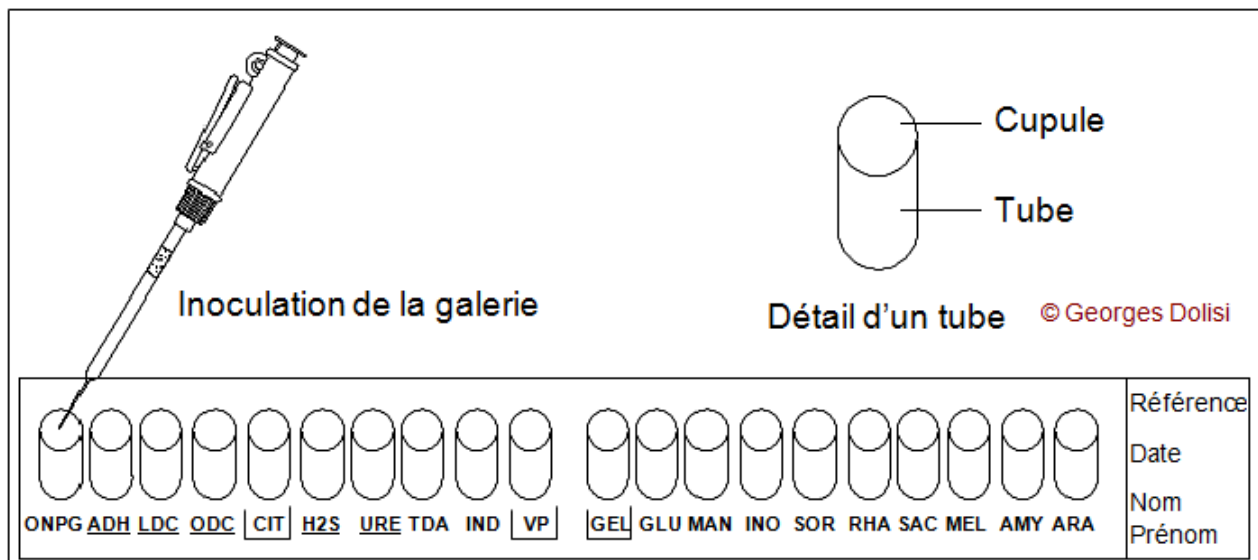


Figure 43 Ensemencement de la galerie API 20E

4- Résultats de l'ensemencement de la galerie

➤ Lecture des résultats

La détermination de la positivité ou la négativité de chaque test consiste sur une lecture ; soit directe (sans ajouter aucun réactif) soit indirecte (en ajoutant des réactifs spécifiques) (Recherche et identification d'Escherichia coli dans Leben marocain). La lecture est faite en se basant sur le tableau ci-dessous :




























TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		

Tableau 22 Lecture de la galerie API 20 E (lecture et interprétation : galerie Api 20E)

➤ Détermination du profil numérique

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois, et une valeur 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive [88]

Annexe II : Procédures à suivre dans la détermination de l'antigène K1.

Étape 1 : Agiter les réactifs latex.

Étape 2 : Pour chaque culture à tester, déposer 1 goutte de latex test dans un cercle sur une carte de réaction, et 1 goutte de latex de contrôle dans un autre cercle.

REMARQUE : il est indispensable d'utiliser le latex de contrôle pour les cultures suspectées contenir E. coli.

Étape 3 : Prendre un bâtonnet de mélange et prélever une petite quantité de la culture en la touchant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. À titre indicatif, il convient de prélever une quantité à peu près équivalente à une grosse colonie.

Étape 4 : Émulsionner l'échantillon de culture dans la goutte de latex test en frottant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. Frotter énergiquement, mais pas trop vigoureusement pour ne pas détériorer la surface de la carte. Étaler le latex pour recouvrir le cercle autant que possible. Jeter le bâtonnet de mélange de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.

Étape 5 : Avec un bâtonnet différent, émulsionner un échantillon de culture similaire dans le latex de contrôle.

Étape 6 : Bouger la carte en la basculant lentement et observer la formation d'une agglutination pendant 20 secondes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.

Étape 7 : Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.

❖ **Lecture des résultats**

Une réaction positive est indiquée par le développement d'un profil d'agglutination dans les 3 minutes suivant le mélange du latex et de l'échantillon à tester, avec une agglomération clairement visible des particules de latex.

Dans une réaction négative, le latex ne s'agglutine pas et l'aspect laiteux reste notablement inchangé tout au long du test (Trousse de détection d'antigènes bactériens [92]).

Annexe III : Indication d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né symptomatique

Annexes

Annexe V : Indication d'un traitement antibiotique chez un nouveau-né symptomatique (*Biran-Mucignat et al.2004*)

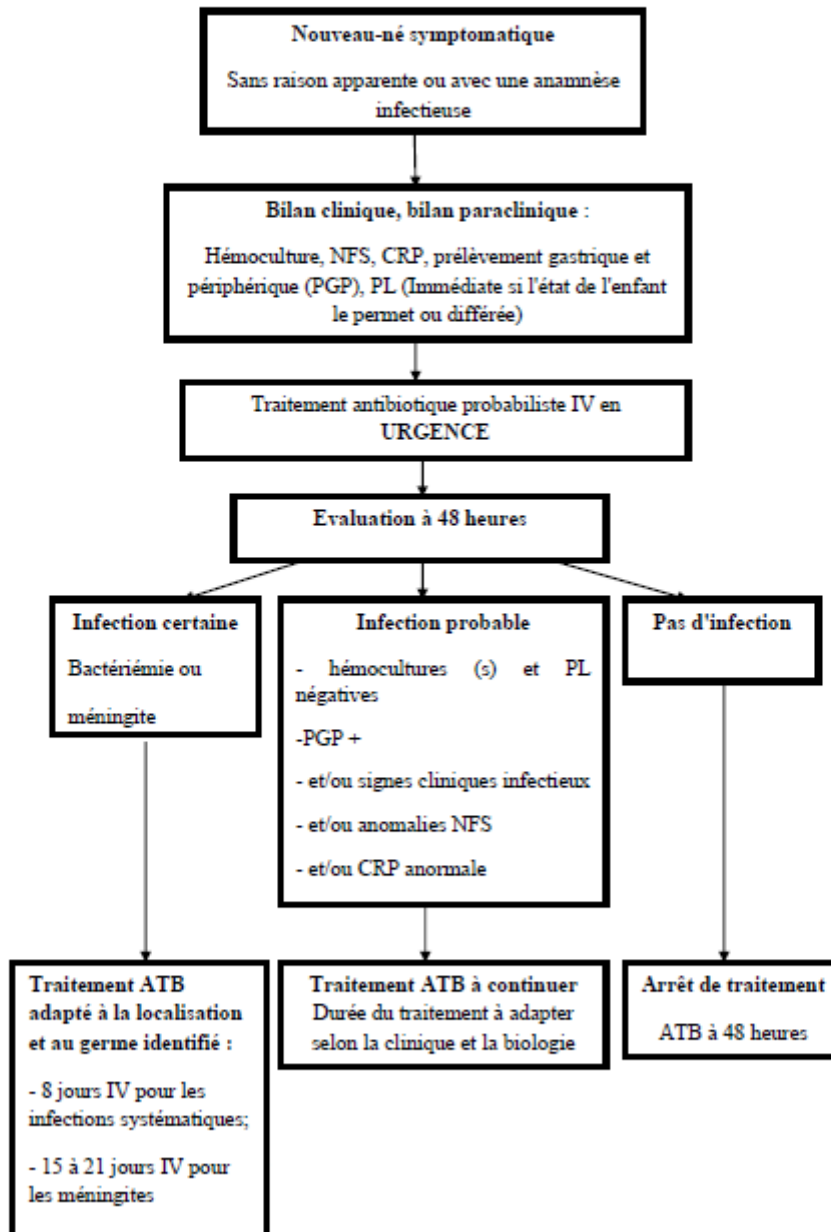


Figure 44 Recherche et identification d'E.coli K1 chez les femmes enceintes [106]

Annexe IV : Matériels du laboratoire

1-Matériel de prélèvement

- ❖ Table gynécologique;
- ❖ Lampe d'examen;
- ❖ Plateau;

- ❖ Gants de soins;
- ❖ Ecouvillon stérile;
- ❖ Spéculum Stérile;
- ❖ Eau physiologique.

2-Matériel d'analyse bactériologique

- ❖ Bec bunsen ;
- ❖ Pipette pasteur ;
- ❖ Eau physiologique stérile ;
- ❖ Lame et lamelle ;
- ❖ Microscope optique G×40 ;
- ❖ Galerie API 20 E ;
- ❖ Galerie classique ;
- ❖ Vaseline ;
- ❖ Ecouvillon stérile ;
- ❖ Disque antibiotique ;
- ❖ Tube stérile ;
- ❖ Pince ;
- ❖ Etuve 37 °C ;
- ❖ Colorant de Gram : la fuschine , lugol ,violet de gentiane ;
- ❖ Alcool ;
- ❖ Huile d'immersion ;
- ❖ Milieux de culture (Gélose Hektoen ; Gélose Mueller Hinton) ;
- ❖ Test agglutination au latex.

Résumé

La lutte contre les infections néonatales à *Escherichia coli K1* est d'une importance majeure en raison de la mortalité et de la morbidité qu'elles peuvent engendrer chez les nouveaux nés.

Dans le but d'évaluer cette situation problématique, nous avons étudié la place d'*Escherichia coli K1* isolée à partir des ECBUs pendant la grossesse, ainsi que les facteurs de risque associés (la rupture prématurée des membranes, la menace d'accouchement prématuré). Il s'agit d'une étude rétrospective effectuée au laboratoire de bactériologie à l'unité Hassiba Ben Bouali au CHU de Blida sur une période allant du mois d'Octobre 2019 au mois d'Août 2020.

Notre échantillon comprend 240 examens cytot bactériologiques des urines (ECBUs) réalisés chez des gestantes à différents stades évolutifs de leur grossesse. La moyenne d'âge des patientes était de 31 ans. La fréquence d'*Escherichia coli K1* était de 17,5%, elle était significativement élevée en présence de facteurs de risques et au troisième trimestre de la grossesse. Les résistances des souches d'*Escherichia coli K1* les plus élevées se sont révélées pour l'Amoxicilline (64,28%), et l'Ampicilline (61,9%). Toutes les souches étaient sensibles aux Imipénèmes et aux Céphalosporines de 3^{ème} Génération.

Un dépistage précoce d'*Escherichia coli* et de son antigène capsulaire K1 chez les femmes enceintes paraît être indispensable afin d'instaurer une antibioprofylaxie per-partum efficace pour prévenir les infections néonatales.

Mots-clés : *Grossesse, Escherichia coli, Antigène K1, infection néonatale, facteurs de risques, Portage.*

Abstract

The fight against *Escherichia coli K1* neonatal infections is a big challenge due to the mortality and the morbidity they can cause.

The present study determined the prevalence of *Escherichia coli K1* colonization in ECBUs, studied its antibiotic resistance and the risk factors associated (premature rupture of membranes, premature delivery threats). This is a retrospective study carried out at Hassiba Ben Bouali bacteriological laboratory CHU of Blida from October 2019 to August 2020.

Our study includes 240 urin swabs collected from pregnant women at different stages of their pregnancy. The prevalence of *Escherichia coli K1* in the vaginal samples was 17,5%, which was significant among women with premature rupture of membranes. The highest rates of resistance were found in Amoxicillin (64,28%), Ampicillin (61,9%). All the strains were sensitive to Imipenems and Third Generation Cephalosporins.

These findings suggest that early detection of *Escherichia coli* and its capsular polysaccharide K1 in urin swabs during pregnancy should be performed in order to introduce an effective drug prophylaxis to prevent these infections.

Keywords: *Pregnancy, Escherichia coli, K1 antigen, neonatal infection, risk factor, colonization.*