

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri FACULTE DE MEDECINE

ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⴰⵏ ⵏ ⵓⵎⵎⵓⵔ ⵏ ⵎⴰⵎⵎⵉⵔⴰ ⵏ ⵉⵎⵎⴰⵔⴰ ⵏ ⵎⴰⵎⵎⵉⵔⴰ

Département de Pharmacie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté et soutenu publiquement le : 13 Octobre 2020

en vue d'obtention du diplôme de doctorat

En Pharmacie

Thème

**Antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli* chez les patients hospitalisés
au niveau du service de réanimation polyvalente du CHU Nedir Mohamed
Tizi-Ouzou –Unité Balloua-**

Présenté par :

M^{lle} BEDRANE Rofeida
M^{me} DELLECI Hanane

M^{lle} LABACI Asma
M^r KEHLOUL Khalil

Promoteur : Pr BENHOCINE Y

Membres de Jury

- **Présidente de jury :** Dr. KESSAL F MAHU Faculté de médecine UMMTO
- **Examinatrice :** Dr. CHERIFI L AHU Faculté de médecine UMMTO

Année universitaire :2019 /2020



Je dédie cette mémoire

*À mes chers parents **LABACI AMAR** et **KERDOUCHI DJAMILA***

Rien n'égale votre patience, vos encouragements et vos prières pour moi tout au long de mon parcours, m'ont toujours donné de la force pour persévérer et pour prospérer dans la vie et si je suis arrivée là, c'est bien grâce à vous. Que Dieu vous donne longue vie et vous protège pour moi.

*À mes très chers adorables frères : **Lakaria** et sa femme **Hayet**, **Hamza**, **Choaib** et **Ayoub***

Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

À mes grands-parents maternels que Dieu les protège pour moi

À mes grands-parents paternels que Dieu pitié d'eux

À mes cousin(e)s, mes tantes, mes oncles et à toutes ma grande famille

À mes meilleures ami(e)s et toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail et qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion



L. Asma



Je dédie cette mémoire

*À ma mère **Naima**, ma douce et tendre maman. Quelque je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.*

*À mon cher père **Boualem**, qui a été et sera toujours un exemple pour moi. par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité. Mon héros ; . même si je ne le dis pas toujours, saches que mon cœur est rempli. . d'amour pour toi.*

*À mon très cher frère : **Ghanou***

Je te souhaite une longue vie pleine de succès, de santé et de joie.

*À mon très cher fiancé **Farid**,*

Ton confiance et ton encouragement m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer toujours vers l'avant.

*À mes très chères sœurs : **Radia, Khadidja** et sa petite adorable famille, **Nonor**, le prince **Akram** et la petite **Ranim**.*

*À mes meilleures ami(e)s **Loubna, Houda, Sabrina** et toutes les personnes qui m'ont aidée de . près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



D.HANANE



*Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert je dédie
ce travail Spécialement à*

*À mes très chers parents, en hommage à tous les sacrifices
que vous avez consenti pour moi durant mes longues années
d'études. Je vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis
maintenant .*

*À ma chère Youcha, pour tout ton amour, ton encouragement,
ton soutien et ta stimulante fierté*

*À la mémoire de mon grand père Elshadj Mohammed , que
dieu l'accueille dans son vaste paradis.*

*À mes très chers frères et adorables sœurs, je vous souhaite
un avenir pleine de joie, de réussite et surtout de santé.*

*À mes amis ainsi qu' à toute personne ayant m'encouragé ou aidé
au long de mes études.*



K. Khalil



Je dédie ce modeste travail

À mon père, l'épaule solide et l'œil attentif

À ma mère, source de vie, d'amour et d'affection

À mes chères sœurs, source de joie et de bonheur

À la mémoire de mes grandes mères

À toute ma famille, source d'espoir et de motivation

À mes amis

Merci



B. Roseida

Remerciements

EL HAMDOULILLAH

Nous remercierons **Dieu**, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre **Promoteur Pr Y, Benhocine** médecin chef de service de Réanimation polyvalente au CHU Tizi-Ouzou -unité- Balloua, pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses conseils, son encouragement, sa patience et ses compétences malgré toutes ses occupations Merci énormément .

Nous remercierons **Pr Taleb** médecin chef de service de réanimation médicale CHU Tizi-Ouzou, pour son humilité et son accueil.

Nous remercierons **Dr Didi** résident en microbiologie laboratoire de microbiologie CHU Tizi -Ouzou pour ses conseils, son accompagnements et nous vous souhaitons une vie pleine de succès et de réussite.

Nous remercierons tous le personnels de service de réanimation polyvalente chacun a son propre non sans exception , et toute l'équipe de laboratoire d'analyse microbiologique, Médecin chef ;maitre assistants ; assistants ; biologistes et techniciens sans oublier nos collègues les internes .

Un grand merci aux membres de Jury d'avoir accepté d' examiner notre travail :

- Docteur Kessal .F comme présidente de jury

-Docteur Cherifi .L examinatrice

Merci

Dédicaces

Remerciements.....	i
Abréviation.....	iii
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	ix
Introduction	1
Les objectifs de l'étude.....	2

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur <i>Escherichia coli</i>.....	3
1. Historique découvert et taxonomie.....	3
2. Habitat	3
3. Caractères bactériologiques.....	4
3.1. Caractères morphologiques.....	4
3.2. Caractères culturels.....	4
3.3. Caractères biochimiques	6
3.4. Caractères biologiques	6
4. Facteurs et mécanismes de virulence.....	6
5. Support génétique de la virulence.	7
chapitre II :Epidémiologie.....	10
1-Europe.	10
2-France	11
3-Maroc	12
4-Tunisie.....	13
5.L'algerie :	14
Chapitre III :Résistance d'<i>E.coli</i> aux antibiotiques.....	20
1. Généralités sur les antibiotiques	20
1.1. Définition	20
1.2. Classification des antibiotiques.....	21
2. La résistance bactérienne aux antibiotiques	21
2.1 Définition	21
2.2. Phénotypes de résistance :	22
2.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	22

3. Mécanisme de résistance d' <i>E.coli</i> aux différentes familles d'antibiotiques	29
3.1.Les Bétalactamines	29
3.2.Les Quinolones	32
3.3.Les aminosides :.....	33
3.4. La fosfomycine	35
3.5.Rifamycine :.....	36
3.6.Les sulfamides et trimethoprim :.....	37
3.7. les tétracyclines.....	39
4.Récapitulatif des mécanismes biochimiques de résistance aux principaux antibiotiques :	40
Chapitre IV: Formes cliniques, traitement et prévention.....	42
1.Formes cliniques.....	42
2.Traitements	43
3. Prévention.....	44
Partie pratique	
I-Matériels et méthodes	46
I-1-Type et période d'étude	46
I-2-Lieu d'étude	46
I-3-Population ciblée	46
I-4-Caractéristique d'étude	46
I-6- Recueil des informations et remplissage de fiche de renseignement	47
I-7-Analyse des prélèvements	47
I-8 Identification d' <i>E. coli</i>	50
II- Résultats.....	60
II-1 L'épidémiologie des infections à <i>Escherichia coli</i>	60
II-2 Les facteurs de risque d'acquisition des infections à <i>E. coli</i> chez les patients hospitalisés.....	63
III- Discussion	71
Conclusion.....	76
Recommandations	78
Les annexes	88
Résumé	96

Abréviation

° : Degré

µg :Microgramme

AAC : aminoside acétyl-transférase

ABC : ATP Binding Cassette

ADH : Arginine dihydrolase

ADN :Acide désoxyribonucléique

AM :ampicilline

AMC : amoxicilline-acide clavulanique

AMPc :adénosine monophosphate cyclique

AMX :amoxicilline

AN : Amikacine

ANT: aminoside nucléotidyl-transférase

APH: aminoside phospho transférase

ARN :Acide ribonucléique

ATB : antibiotique

ATM :Aztéonam

ATS: American Thoracic Society

B .fragilis :Bacteroide fragilis

BGT : Bouillon glucosé tamponné

BLSE :betalactamases à spectre élargi

C : Chloramphenicol

C+G : cytosine+guanine

C2G :Céphalosporine de deuxieme génération

C3G : Céphalosporine de troisième génération

CASE : Cephalosporinase

CASFM : comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ : ceftazidime

CC : Citrate de Christensen

CHU : Centre hospitalo-universitaire

CIP : ciprofloxacine

CLIN : Le comité de lutte contre les infections nosocomiales

CMI : concentration minimale inhibitrice

CRO : ceftriaxone
CRP : protéine C réactive
CS : Citrate de Simmons
CTX :céfotaxime
CTX-M :Cefotaximase Munich
CXM :céfixime
CZ : Cefazoline
DHFR :Dihydrofolate réductase
DHPS :Dihydroptéroate synthétase
E. coli : *Escherichia coli*
ECBU : Etude cyto bactériologique des urines
EMB : bleu de méthylène éosine
ERT :ertapénème
FOS :fosfomycine
FOX : Cefoxitine
FU : nitrofuranes
G-6-P : glucose 6 phosphate
GB : globule blanc
Gel : Gélatinase
GEN : Gentamycine
GLU : Glucose
Gram- : gram négatif
GSC :Gélose sang cuit
H₂S : Hydrogène sulfuré
I : intermédiaire
IDSA : Infectious Diseases Society of America
IM : Internal Membrane
IND : Indole
IPM :imipénème
LAC : Lactose
LDC : Lysine décarboxylase
MAL : Malonate
MATE : Multi AnTimicrobial Extrusion
MEC : mécillinam

MFS ; Major Facilitator Superfamily

MLSB-c : résistance aux Macrolides, Lincosamides et aux composés B des synergistines consécutives.

MLSB-i : résistance aux Macrolides, Lincosamides et aux composés B des synergistines inductives.

NA : acide nalidixique

NIT : Nitrate réductase

NOR : norfloxacin

ODC : Ornithine décarboxylase

OFL : ofloxacin

OM : Outer Membrane

ONERBA : Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques

ONPG : Ortho-Nitrophényl- β -Galactosidase

PABA : l'acide para-aminobenzoïque

PBP : Penicillinbindingprotein

PDA : Phényl alanine désaminase

PLP : protéines de liaison à la pénicilline.

Qnr :Quinolone resistance

QRDR :Quinolone Resistance Determining Region.

R : résistante

RM : Rouge de Méthyle

RND ;Resistance Nodulation and cell Division

S : sensible

S.aureus : Staphylococcus aureus

SARM , MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SHV :Sulphydryl reagent variable

SMR : Small Multidrug Resistance

SXT : cotrimoxazole

TDA : Tryptophane désaminase

TEM : Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée

TRI : Temoniera resistant inhibiteur

UFC : unités formant des colonies

URE : Uréase

VP : Réaction de Voges Proskauer

β-Gal : Bêta-galacto-D pyranosid

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification phylogénique <i>d'E.coli</i>	3
Tableau 2 : Caractères biochimiques d' <i>E.coli</i>	6
Tableau 3 : Distribution des souches d'E. coli selon le type de prélèvement	12
Tableau 4 : Fréquences de résistance aux antibiotiques d' <i>E. coli</i>	13
Tableau 5 : Fréquences d'isolement d' <i>E. coli</i>	14
Tableau 6 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> selon les services.....	15
Tableau 7 : Répartition des souches d'E. coli selon le type de prélèvement	16
Tableau 8 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i>	17
Tableau 9 : Classification des antibiotiques selon leur site d'action.....	20
Tableau 10 : Récapitulatif des mécanismes biochimiques de résistance aux principaux antibiotiques.....	39
Tableau 11 : Traitements des infections causées par <i>E.coli</i>	43
Tableau 12 : Test de mannitol mobilisé.....	53
Tableau 13 : Test citrate de Simmons.....	53
Tableau 14 : Test TSI (milieu triple sucre).....	54
Tableau 15 : Test d'urée indole.....	54
Tableau 16 : Test ONPG.....	55
Tableau 17 : Recherche de décarboxylase.....	55
Tableau 18 : Taux des souches d' <i>E. coli</i> isolées au seins des germes isolés	60
Tableau 19 : Le taux d'isolement d' <i>E. coli</i> par rapport aux souche hospitalières du 2017 jusqu'au 2020.....	61
Tableau 20 : Répartition des souches d'E. coli selon le type de prélèvement	62
Tableau 21 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> Selon le sexe.....	63
Tableau 22 : Répartition des souches d'E. coli isolées selon la tranche d'âge.....	64
Tableau 23 : La répartition des patients selon les antécédents médicaux.....	65

Tableau 24: Répartition des patients selon les gestes invasifs pratiqués.....	66
Tableau 25: L'antibiothérapie prophylactique reçue par les patients.....	67
Tableau 26: Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation.....	68
Tableau 27 : taux de résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques.....	69
Tableau 28 : comparaison de la répartition d' <i>E. coli</i> selon la nature de prélèvements.....	71
Tableau 29 : Taux de résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques dans quelque pays.....	74

Liste des figures

Figure 1 : <i>E. coli</i> après coloration de Gram(b) et sous microscope électronique(a).....	4
Figure 2 : Aspect d' <i>E.coli</i> sur gélose nutritive.....	4
Figure 3 : Aspect d' <i>E.coli</i> sur milieu EMB.....	5
Figure 4 : Aspect d' <i>E.coli</i> sur milieu Hektoen.....	5
Figure 5 : Aspect d' <i>E.coli</i> sur gélose au sang.....	5
Figure 6: Aspect d' <i>E. coli</i> sur milieu <i>Marc Conkey</i>	6
Figure 7: Prévalence croissante de la multi résistance en Europe de 2002 à 2009 chez <i>Escherichia coli</i>	10
Figure 8 : Taux de sensibilité aux différents antibiotiques sur l'ensemble de la population.....	11
Figure 9 : Fréquence d'isolement d' <i>E. coli</i> en fonction des hôpitaux et de la période d'étude	14
Figure 10: Ordre chronologique de l'apparition des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique. Adaptée de Walsh (2003).....	19
Figure 11: Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques.....	23
Figure 12 : Représentation schématique du système d'efflux.....	27
Figure 13: Mécanisme d'hydrolyse d'une β -lactamine par une β lactamase.....	30
Figure 14: Action des antibiotiques sur une partie du cycle des folates.....	37
Figure 15: Exemple de lame en verre avec son quadrillage.....	48
Figure 16 : Schéma d'une portion de lamelle.....	48
Figure 17 : <i>E .coli</i> observée sur Hektoen.....	49
Figure 18: Observation microscopique des cellules d' <i>E. coli</i> après coloration de Gram (grossissement X 100).....	51
Figure 19 : Galerie biochimique Api 20E d' <i>E. coli</i>	52
Figure 20 : Antibiogramme d' <i>E.coli</i>	57

Figure 21 : Taux des souches d' <i>E. coli</i> isolées au seins des autres germes isolés.....	61
Figure 22 : Le taux d'isolement d' <i>E.coli</i> par rapport aux souches hospitalières du 2017 jusqu'au 2020.....	62
Figure 23 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> selon le type de prélèvements.....	63
Figure 24 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> Selon le sexe.....	64
Figure 25 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon la tranche d'âge.....	65
Figure 26 : La répartition des patients selon les antécédents médicaux.....	66
Figure 27 :Répartition des patients selon les gestes invasifs pratiqués.....	67
Figure 28 : L'antibiothérapie prophylactique reçue par les patients.....	68
Figure 29 : Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation.....	69
Figure 30 : Taux de résistance d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques.....	70

Introduction

Depuis longtemps, les infections microbiennes occupent la première place dans les pathologies humaines, ils sont dus à l'action des agents pathogènes qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. L'examen microbiologique est la meilleure solution pour les identifiés.

Les infections en milieu hospitalier sont fréquentes, particulièrement en réanimation en raison de la fragilité des patients et de la multiplication des procédures invasives (sondes urinaires, intubations trachéales et ventilation assistée, intervention chirurgicale, cathéters).

Escherichia coli est la bactérie la mieux étudiée et le microorganisme expérimentales de choix pour beaucoup de microbiologistes. Cette bactérie majeure du colon humain et des animaux à sang chaud est très utile pour l'analyse de la contamination fécale. Par ailleurs, c'est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales.

Il est devenu nécessaire de connaître la bactérie, de bien maîtriser ses mécanismes de résistance, ainsi que de tester son comportement vis-à-vis des antibiotiques afin d'apporter une solution thérapeutique et une fin à ce fléau.

Par ailleurs, l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. Depuis la découverte des antibiotiques, la résistance n'a pas cessé d'augmenter. *Escherichia coli* est parmi les bactéries dont la multi résistance est très inquiétante surtout en milieu hospitalier.

Devant ce constat, il est important de sensibiliser les praticiens de santé sur la gravité du problème et leur faire comprendre les mécanismes mis en jeu dans la résistance bactérienne afin de lutter contre ce phénomène.

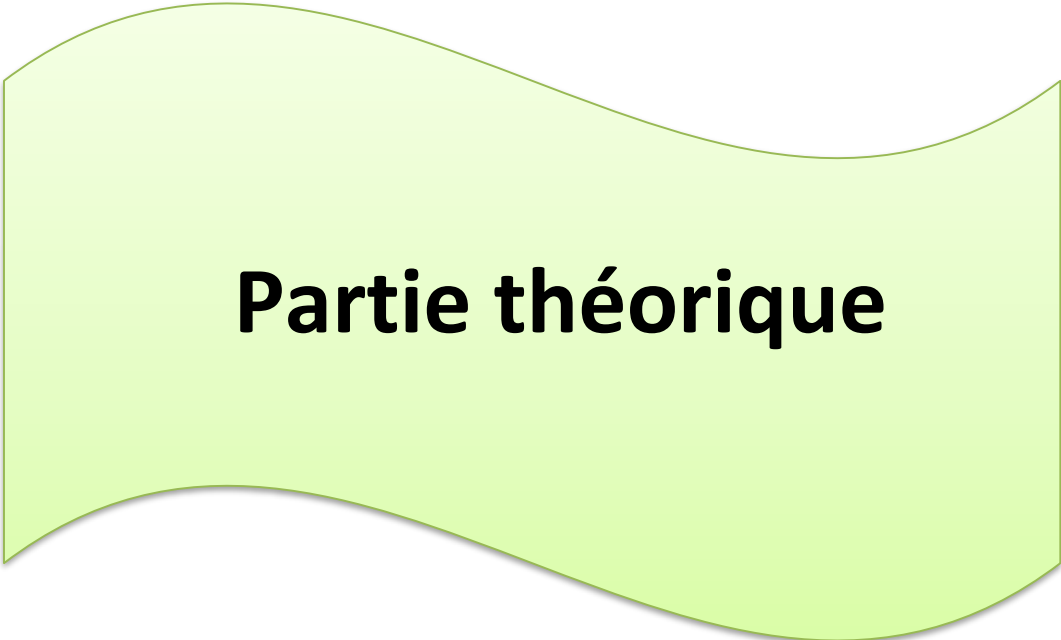
Les objectifs de l'étude

➤ Objectif principal

- évaluer la répartition et le profil de résistance des souches d'*E.coli* isolées des différents prélèvements
- Etudier la fréquence de survenue de cet opportuniste parmi les germes isolés au sein du même service.
- Déterminer son profil de résistance aux antibiotiques.

➤ Objectifs secondaire

Identifier les facteurs de risque d'acquisition.



Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur *Escherichia coli*

1. Historique découvert et taxonomie[1]

E. coli est une bactérie appartenant à la classe des γ -protéobactéries et à la famille des Enterobacteriaceae. Elle fut décrite pour la première fois en 1885 par le pédiatre allemand Théodore Escherich (1857-1911) dans les entérites des nourrissons. Dénommée «Bacterium coli commune », « Bacillus coli » ou encore « Bacterium coli », Castellani et Chalmers proposèrent en 1919 de renommer cette bactérie *Escherichia coli* en hommage aux travaux d'Escherich. Cette dénomination fut officiellement adoptée en 1958.

E. coli est l'espèce type du genre *Escherichia*. Les études d'hybridation ADN/ADN ont conduit à individualiser cinq autres espèces au sein de ce genre : *E. hermannii*, *E. vulneris*, *E. fergusonii*, *E. Alberti* et, décrite très récemment, *E. marmotae* (130–134). Ces espèces sont isolées de manière anecdotique en pathologie humaine et possèdent des caractères biochimiques propres permettant de les différencier les unes des autres.

Selon le Bergey's Manuel 2007 *Escherichia coli* appartient au (**Tableau 1**)

Tableau 1: Classification phylogénique d'*E. coli*

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

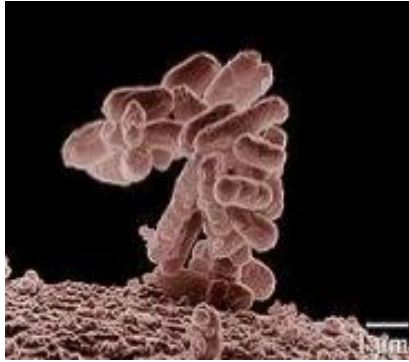
2. Habitat

C'est l'espèce dominante de la microflore aérobie du tube digestif. *E. coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale [2], elle colonise de manière asymptomatique le tractus digestif de l'Homme dans les premières heures qui suivent la naissance et constitue dès lors l'espèce bactérienne dominante de la flore anaérobie facultative du colon humain. Sa niche écologique se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon où elle assure, avec les autres composants de la microflore, une barrière de protection de la muqueuse. La concentration en *E. coli* par grammes de selles varie d'un individu à un autre de 10^7 à 10^9 unités formant des colonies (UFC). Elle est plus faible chez les autres mammifères [1]. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers.

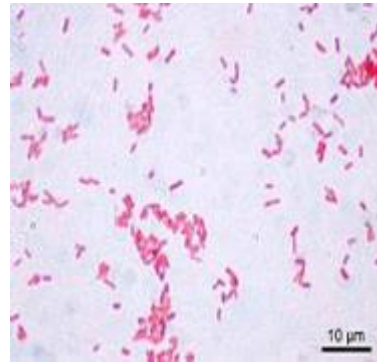
3.Caractères bactériologiques.

3.1.Caractères morphologiques

E. coli est un bacille à Gram négatif (figure 1 a, b), de forme bâtonnet droit et à extrémités arrondies, mesurant de 2 à 4 μm de longueur sur 0,4 à 0,6 μm de largeur, mobile grâce à une ciliature péritriche, non sporulée mais parfois capsulée.[3]



(a)



(b)

Figure 1 : *E. coli* sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b)

3.2.Caractères cultureux

E. coli est une aéroanaérobie facultative, elle se cultive facilement sur les milieux ordinaires à 37 °C et à pH 7,5. [3]

-Sur gélose nutritive : apparue sous forme de colonies arrondies, humides, brillantes et de couleur blanchâtre ou légèrement jaunâtre lisse (S) ou rugueuse (R) ou parfois muqueuses. [4]

(Figure 2)



Figure 2 : Aspect d'*E.coli* sur gélose nutritive(Moodle.umontpellier.fr)

-Sur milieu EMB (bleu de méthylène éosine) elle donne des colonies d'un violet foncé avec éclat métallique verdâtre.**(Figure 3)**

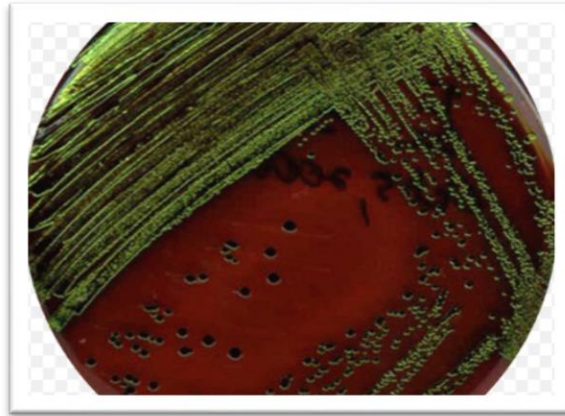


Figure 3 : Aspect d'*E.coli* sur milieu EMB(ResearchGate)

-Sur milieu Hektoen des colonies saumon. [4](**Figure 4**)



Figure 4 : Aspect d'*E.coli* sur milieu Hektoen

-Sur gélose au sang : colonies rondes, translucides parfois hémolytiques. [4] (**Figure 5**)

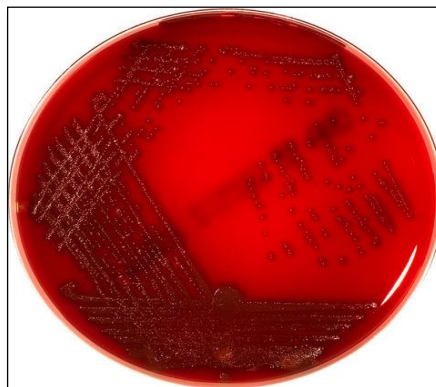


Figure 5 : Aspect d'*E'coli* sur gélose au sang

-Sur Mac Conkey, colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur .(**Figure 6**)



Figure 6:Aspect d'*E. coli* sur milieu Marc Conkey(shutterstock.com)

3.3.Caractères biochimiques

E. coli réduit les nitrates en nitrites, fermente avec production de gaz le glucose, le lactose, et le mannitol, ne liquéfie pas la gélatine, ni les protéines coagulées, acidifie et coagule le lait, produit l'indole, mais ne produit pas de H₂S ni d'acétoïne (VP), possède une β -galactosidase, une Lysine décarboxylase mais pas d'uréase, possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase.(**Tableau 2**) [5]

Tableau 2 :Caractères biochimiques d'*E.coli*

Test	Résultat
GLU	+
LAC	+
H ₂ S	-
GAZ	+
CS	-
ONPG	+
GEL	-

MAL	-
NIT	+
LDC	+/-
ODC	+/-
ADH	+/-
URE	-
TDA	-
IND	+
RM	+
VP	-

3.4.Caractères biologiques

Grande vitalité aussi bien dans le milieu extérieur qu'en culture, sensible à l'action de la chaleur, et du chlore, résiste à l'acide phénique en solution 1%, et sécrète des endotoxines.

4.Facteurs et mécanismes de virulence.

Un facteur de virulence est une molécule produite par un agent infectieux (bactéries, virus, mycètes, protozoaires) qui contribue au caractère pathogène — la virulence — de ces organismes en leur permettant :

-d'occuper une niche chez l'hôte (colonisation), ce qui passe par l'attachement à ses cellules ;

-d'échapper au système immunitaire de l'hôte (immunoévasion)

-d'inhiber le système immunitaire de l'hôte (immunosuppression) ;

-d'entrer et de sortir des cellules de l'hôte dans le cas des infections intracellulaires (typiquement pour les virus) ;

-d'absorber les nutriments de l'hôte.

Les agents infectieux possèdent une grande variété de facteurs de virulence. Certains font partie de leur patrimoine génétique et sont propres aux bactéries, comme les endotoxines, tandis que d'autres proviennent d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides et les bactériophages, comme les exotoxines. Les facteurs de virulence codés sur des éléments génétiques mobiles se propagent par transfert horizontal de gènes et peuvent faire d'une bactérie inoffensive un agent infectieux.

Une bactérie comme *Escherichia coli* a ainsi acquis l'essentiel de sa virulence à partir d'éléments génétiques mobiles.

5.Support génétique de la virulence.

Si l'univers des souches pathogènes d'*E. coli* apparaît aussi complexe aujourd'hui, c'est la conséquence de l'évolution très rapide du monde bactérien, à la plasticité du génome des bactéries, en particulier *E. coli*, permettant des échanges permanents de matériel génétique, et aussi à la présence de nombreux gènes qui codent pour ces propriétés de virulence sur des structures génétiques mobiles, comme des plasmides, des transposons, des phages ou des îlots de pathogénicité. Les souches pathogènes d'*E. coli* possèdent jusqu'à 20 % d'information génétique supplémentaire, acquise vraisemblablement au cours de transferts horizontaux d'ADN.

L'origine étrangère de ces fragments d'ADN est encore décelable grâce à un G+C % et à un usage préférentiel des codons différents. De nombreux gènes nouvellement acquis sont localisés sur le chromosome, mais beaucoup d'autres le sont sur des réplicons extra-chromosomiques, les plasmides.

Au cours de l'évolution, ces gènes peuvent s'intégrer dans des structures relativement indépendantes, comme les transposons ou les phages, ou se regrouper pour former des îlots de pathogénicité.

Chapitre I : Généralités sur *Escherichia coli*

Les plasmides sont des molécules d'ADN double brin, presque tous circulaires, et autonomes du chromosome bactérien pour le contrôle de leur réplication. Leur taille varie entre quelques kbases et plusieurs centaines de kbases et ils sont présents en un nombre défini de copies par cellule bactérienne. Certains peuvent se transférer horizontalement, dans d'autres souches d'*E. coli* voire d'autres espèces bactériennes, par conjugaison ou mobilisation, entraînant tous les gènes présents, y compris ceux situés sur des transposons, phages ou îlots de pathogénicité.

La présence de gènes qui codent pour des facteurs de virulence d'*E. coli* sur des plasmides favorisent donc leur mobilité à l'intérieur, ainsi qu'en dehors de cette espèce bactérienne.

Les transposons sont des fragments linéaires d'ADN qui sont capables de se transférer, avec ou sans duplication, depuis le chromosome bactérien jusqu'à un plasmide ou entre deux plasmides. Ils ne sont pas autonomes des réplicons qui les véhiculent.

Les phages sont les virus des bactéries. Ils peuvent suivre un cycle lytique ou un cycle non lytique (= phages tempérés), qui les voit s'incorporer dans le chromosome bactérien ou exister sous la forme d'un plasmide (= prophages). Les prophages peuvent se réveiller sous l'influence de conditions extérieures (rayons ultra-violetts par exemple) et entamer leur cycle lytique.

Les îlots de pathogénicité sont des fragments linéaires d'ADN intégrés sur le chromosome bactérien, parfois sur un plasmide, qui se comportent comme des blocs indissociables et répondent aux définitions suivantes [6] [7]

- ils comprennent divers gènes codant pour des facteurs prouvés ou potentiels de virulence ;
- ils sont présents dans certaines souches pathogènes, mais pas dans les souches non pathogènes de la même espèce bactérienne ;
- leur taille varie entre 10 et 200 kbases ;
- leur contenu en G+C % est différent de celui de la bactérie hôte, attestant d'une origine étrangère
- ils sont souvent encadrés par de courtes séquences répétées directes ;
- ils sont associés à des gènes codant pour des ARN de transfert (site d'intégration)
- ils contiennent aussi des gènes, cryptiques ou exprimés, codant pour des fonctions d'intégration, ou de transposon, et des séquences d'insertion entières ou partielles

Chapitre I : Généralités sur *Escherichia coli*

-ils sont souvent instables et s'excisent en bloc à des fréquences variables selon l'îlot de pathogénicité. Lorsqu'ils s'excisent, toutes les fonctions pour lesquelles ils codent sont perdues. [7]

chapitre II :Epidémiologie

Le profil épidémiologique d'*Escherichia coli* varie d'un pays à un autre et d'une région à l'autre. De ce fait, la connaissance de l'épidémiologie ainsi que son évolution reste indispensable pour le choix d'une antibiothérapie de première intention efficace et adaptée pour chaque région.

1-Europe. [20]

Dans son premier rapport annuel, le Réseau européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (EARSNet) devenu Système européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (EARSS) au Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) le 1er janvier 2010 ; suite à la série de rapports annuels publiés par le réseau depuis 2001 ; a souligné que la résistance aux antimicrobiens a progressivement pris une place de plus en plus importante dans le programme de santé publique en Europe. Cette surveillance a joué un rôle important pour documenter l'apparition et la propagation de la résistance aux antimicrobiens et sensibiliser les responsables de la santé publique au problème au niveau politique et dans la communauté scientifique.

Sur la base des données de 28 pays, la situation de résistance en Europe varie fortement selon le type de pathogène, la substance antimicrobienne et la région géographique. Les résultats de résistance les plus préoccupants provenaient de la diminution rapide de la sensibilité d'*E. coli* invasive et de la forte prévalence de *Klebsiella pneumoniae* aux céphalosporines de troisième génération, fluoroquinolones et les aminoglycosides (supérieure à 10%) ; et quelques pays rapportent des pourcentage élevés de résistance aux carbapénèmes. Ces antibiotiques ont été largement utilisés dans de nombreux pays en raison du taux croissant d'*Enterobacteriaceae* productrices de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) avec un impact conséquent sur l'émergence de la production de carbapénémases.(Figure 7)

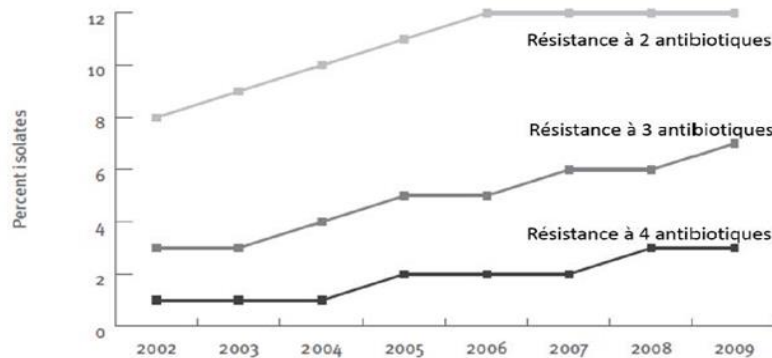


Figure 7: Prévalence croissante de la multi résistance en Europe de 2002 à 2009 chez *Escherichia coli*.

2-France [19]

Le réseau AFORCOPI-BIO (Association de formation continue en pathologie infectieuse des biologistes) est un réseau de laboratoires de ville, fédérés au sein de l'ONERBA (Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques). Il regroupe 121 sites de prélèvements et 7 importants plateaux techniques drainant ainsi les régions autour des villes de Saintes, Toulouse, Nîmes, Marseille et Lyon. L'étude est rétrospective multicentrique et porte sur l'année 2015. Chaque laboratoire fournit les données exhaustives d'antibiogrammes de tous les *Escherichia coli* isolés dans les urines. Les données sont adressées au laboratoire de biologie de l'Hôpital d'instruction des armées Laveran à Marseille. L'analyse des taux de résistance est effectuée sur les résultats interprétés : sensible, intermédiaire et résistant. Les antibiotiques étudiés sont : ampicilline (AM) ou amoxicilline (AMX), amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfixime (CXM), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ), ertapénème (ERT), imipénème (IPM), mécilinam (MEC), acide nalidixique (NA), ofloxacine (OFL), norfloxacin (NOR), ciprofloxacine (CIP), gentamicine (G), cotrimoxazole (SXT), nitrofuranes (FU) et fosfomycine (FOS). La plupart des antibiotiques sont testés par l'ensemble des laboratoires suivant les recommandations du CASFM. Le phénotype β -lactamase à spectre étendu (BLSE) a été défini dès qu'une BLSE est présente quel que soit le degré de production d'une éventuelle céphalosporinase ; le phénotype CASE si une céphalosporinase est hyperproduite avec atteinte d'au moins une céphalosporine de 3^e génération et en l'absence de BLSE. Les analyses statistiques utilisées reposent sur la méthode du Chi2 de Pearson. Au total, les données de 43 245 antibiogrammes d'*Escherichia coli* ont été analysées. Depuis 2015, les résultats pour les aminopénicillines (**figure 8**) peuvent être rendus avec l'ampicilline ou l'amoxicilline. Le taux de sensibilité à cette classe

d'antibiotique est faible (sensibilité globale des aminopénicillines de 51 %). L'adjonction de l'acide clavulanique ne permet de restaurer la sensibilité que sur 18,3 % des souches (sensibilité pour l'AMC : 69,3 %). Les céphalosporines de 3e génération parentérales gardent une bonne activité avec des sensibilités de 93 % pour le céfotaxime à 91,5 % pour la ceftriaxone. Les souches restent très sensibles à l'ertapénème et à l'imipénème. La résistance de bas niveau aux quinolones concerne presque 20 % des souches. La sensibilité aux fluoroquinolones va de 81,5 % pour l'ofloxacine à 87,8 % pour la ciprofloxacine. Les antibiotiques à spécificité urinaire restent parmi les plus efficaces, notamment la fosfomycine et les nitrofuranes (sensibilité pour les deux molécules de 98,7 %), à un moindre degré pour le mécillinam, cependant moins testé par les laboratoires. L'analyse des taux de sensibilité aux antibiotiques dans les 3 catégories de population de l'étude (homme, femme, enfant) montre des résultats moins favorables dans la population des hommes notamment pour des antibiotiques comme les fluoroquinolones (sensibilité pour la ciprofloxacine : 88,9 %, 81,8 % et 95,2 % respectivement chez les femmes, hommes et enfants) ou encore mais à un moindre degré les céphalosporines .

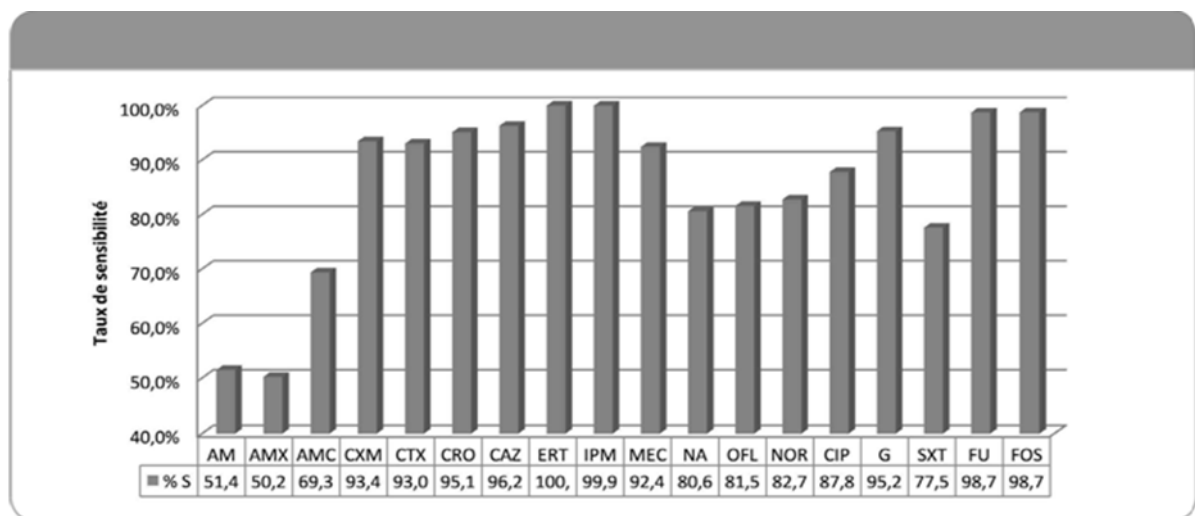


Figure 8. Taux de sensibilité aux différents antibiotiques sur l'ensemble de la population. [19]

3-Maroc

En milieu hospitalier : des études réalisées dans différents hôpitaux du royaume sur le traitement des infections urinaires à *E. Coli* par l'amoxicilline soit seule soit en association avec l'acide clavulanique, ont montré que le taux de résistance de ce germe est entre 50 et 70%. Ainsi, en 2005, à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V de Rabat, le pourcentage de résistance d'*E.coli* à l'amoxicilline + acide clavulanique était de 50% [72] par contre il était de 60% à l'hôpital universitaire Cheikh Zayd de Rabat entre 2005 - 2007 [73]. Une autre étude

réalisée à l'hôpital militaire de Marrakech entre 2009 et 2010 a révélé que, chez les nourrissons, le taux de résistance de ce germe était de 69% à l'amoxicilline seule et de 55% pour cet antibiotique en association avec l'acide clavulanique [74]. Ce pourcentage était de 67% au CHU de Fès pour l'association amoxicilline / acide clavulanique [75] - En ville : La croissance de l'antibiorésistance d'*E.Coli* lors des infections communautaires est un phénomène inquiétant. Les résultats de l'étude faite à El Jadida par Nadmia et al, montre que le pourcentage de résistance de ce germe à l'amoxicilline est de 61% [19]. A Meknès, Lahlou- [76] ont étudié la résistance aux antibiotiques dans les infections urinaires à l'Hôpital Militaire Moulay Ismail. Sur 6000 échantillons urinaires, 730 répondaient aux critères d'infection urinaire (12,2 %). Parmi les infections, 30 % provenaient de patients hospitalisés et 70 % de patients consultant en ambulatoire. *Escherichia coli* domine le profil épidémiologique aussi bien pour les entérobactéries hospitalières que communautaires avec respectivement 65 et 80 % des isolats.

4-Tunisie [77]

L'étude suivante est faite par LART (L'Antibio-Résistance en Tunisie) qui a comme objectif principal la mesure de la sensibilité aux antibiotiques des principales espèces bactériennes isolées dans certains hôpitaux tunisiens afin de suivre l'évolution des résistances bactériennes et de détecter l'émergence de nouveaux phénotypes de résistance.

Les résultats montrent que *E. coli* reste l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée. Essentiellement responsable d'infections urinaires (84,6%), elle est également incriminée dans des infections graves telles que les bactériémies et les suppurations intra-abdominales (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Distribution des souches d'*E. coli* selon les prélèvements.

Prélèvements	2008 (4953)		2009 (4591)		2010 (4264)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Urines	4266	86,2	3872	84,4	3752	84,6
Hémocultures	161	3,2	172	3,7	147	3,3
Pus	242	4,9	335	7,3	223	5
Ponctions	114	2,3	29	0,6	113	2,5
Autres	170	3,4	183	4	197	4,4

Le taux de résistance aux aminopénicillines de l'ordre de 65% est comparable aux années précédentes. Par ailleurs, la résistance aux C3G est en augmentation progressive. Elle est passée de 6,5% en 2007 à 8% en 2008 -2009 pour atteindre 9,2% en 2010. De plus, l'année 2010 a été marquée par l'émergence de rares souches résistantes aux carbapénèmes. Les aminosides gardent une bonne activité sur nos souches, notamment l'amikacine (<5% de souches résistantes) (**Tableau 4**).

Tableau 4. Fréquences de résistance aux antibiotiques d' *E. coli*

ATB	2008 (4953)			2009 (4445)			2010 (4264)		
	R	I	I+R	R	I	I+R	R	I	I+R
<u>Amx</u>	65,8	1,3	67,1	68,6	1	69,6	67	0,7	67,7
<u>Amc</u>	2,8	21,6	24,4	12	22,7	34,7	8,5	19,6	28,1
<u>Tic</u>	53,8	7,5	61,2	68,1	0,4	68,5	67,2	0,2	67,4
<u>Cf</u>	13,6	20,8	34,4	13,2	20,9	34,1	13	14,9	27,9
<u>Fox</u>	2,2	2,1	4,3	0,9	2,3	3,2	0,6	1,3	1,9
<u>Ctx/Caz</u>	7,5	0,5	8	6,3	1,6	7,9	8,2	1	9,2
<u>Imp</u>	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0,02
<u>Gm</u>	9,8	0,4	10,2	10	0,5	10,5	9,4	0,3	9,7
<u>An</u>	1,3	3,3	4,6	1,5	2,9	4,4	0,8	1,5	2,3
<u>Té</u>	48,3	3,2	51,5	51,8	3,6	55,4	52,3	4,8	57,1
<u>C</u>	10,6	1,2	11,8	11	1,5	12,5	13,2	0,4	13,7
<u>Cs</u>	0,1	0	0,1	0,08	0	0,08	0	0	0
<u>Nal</u>	18,5	1,1	19,6	20,4	1,7	22,1	21,5	1,2	22,7
<u>Cip</u>	14,3	1	15,3	15,3	1,2	16,5	16,4	1	17,4
<u>Sxt</u>	41,2	1,6	42,8	47,3	1,4	48,7	45,4	0,8	46,2

5.L'algerie : [78]

Deux cent quarante souches d'*Escherichia coli* ont été isolées au niveau des trois centres hospitalo-universitaires (CHU) du Nord-Ouest algérien, ce qui correspond à une fréquence d'isolement de 20% (240/1200). 87 souches ont été isolées au CHU de Tlemcen (87/520), soit 16.7%, 78 au CHU d'Oran (78/292), soit 26.7% et 75 au CHU de Sidi Bel Abbes (75/388), soit 19.3%. La fréquence d'isolement d'*E. coli* était différente en fonction des hôpitaux et des années (**Tableau 5 ,Figure 9**). En effet, durant toute la période d'étude les souches d'*E. coli* ont été fréquemment isolées au niveau du CHU d'Oran. De plus, la fréquence d'isolement de cette espèce a atteint sa valeur maximale durant l'année 2010 avec 33.3% de prélèvements positifs.

E. coli représente 18.4% des bacilles à Gram négatif (BGN) isolés durant l'étude. Elle occupe la deuxième place après *Acinetobacter baumannii* qui prédomine parmi les 1302 BGN identifiés. Le classement d'*E. coli* diffère au niveau des CHUs

Tableau 5 : Fréquences d'isolement d'*E. coli*

CHU	Tlemcen	Sidi Bel Abbes	Oran	Total
Année	Nombre de souches / Nombre de prélèvements (Fréquence d'isolement %)			
2008/2009	45/264 (17)	9/72 (12.5)	00/00 (00)	54/336 (16.1)
2010	13/37 (35.1)	44/171 (25.7)	29/50 (58)	86/258 (33.3)
2011	21/157 (13.4)	15/100 (15)	38/188 (20.2)	74/445 (16.6)
2012	8/62 (13)	7/45 (15.5)	11/54 (20.4)	26/161 (16.1)
Total	87/520 (16.7)	75/388 (19.3)	78/292 (26.7)	240/1200 (20)

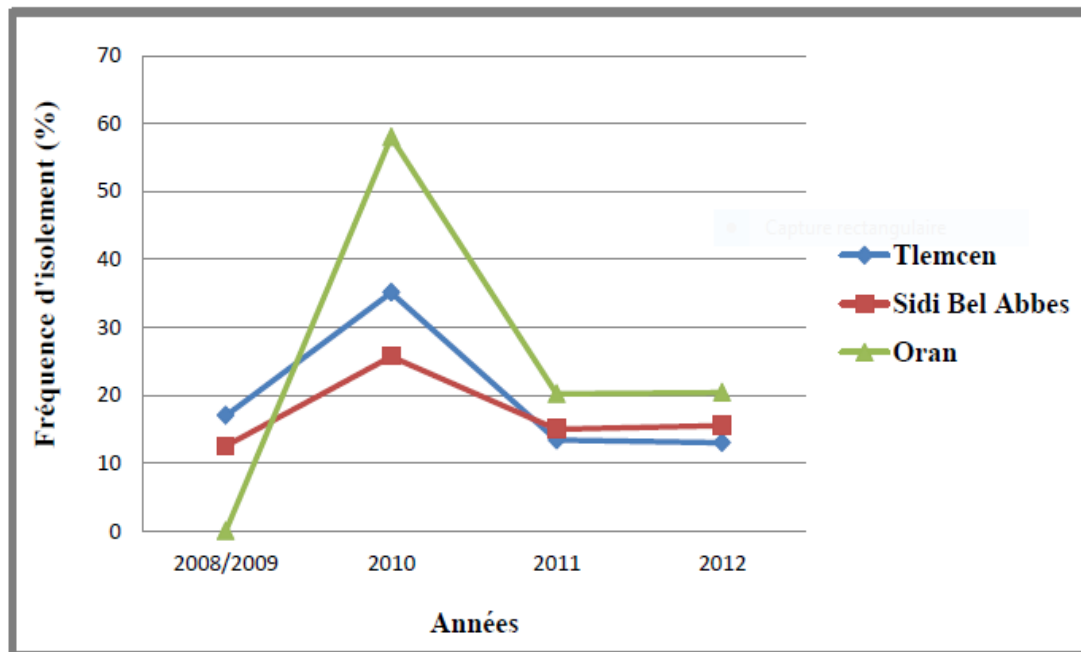


Figure 9 : Fréquence d'isolement d'*E. coli* en fonction des hôpitaux et de la période d'étude

Les souches d'*E. coli* ont été essentiellement isolées des services de réanimation avec 112 souches soit 46.7% (112/240) (**Tableau 6**). Les autres souches ont été collectées à partir des services de chirurgie (20.4%), de neurochirurgie (15.8%), d'urgence (8.3%), de médecine interne (5.4%), d'ORL (1.7%), d'endocrinologie (1,3%) et d'urologie (0.4%).

La répartition des souches étudiées dans les services était différente en fonction des hôpitaux (**Tableau 6**). En effet, pour les CHUs de Tlemcen et d'Oran les services de réanimation représentaient la source principale des souches d'*E. coli* avec des taux d'isolement de 70.1% (61/87) et 42.3% (33/78) respectivement. Cependant, au niveau du CHU de Sidi Bel Abbès les souches d'*E. coli* provenaient essentiellement des services d'urgence médicale et chirurgicale (26,7%), de réanimation (24%) et de chirurgie (22.7%).

Tableau 6 :Répartition des souches d'*E. coli* selon les services

CHU Service	Tlemcen (%)	Sidi Bel Abbès (%)	Oran (%)	Total (%)
Réanimation	61 (70.1)	18 (24)	33 (42.3)	112 (46.7)
Chirurgie	10 (11.5)	17 (22.7)	22 (28.2)	49 (20.4)
Neurochirurgie	10 (11.5)	5 (6.6)	23 (29.5)	38 (15.8)
UMC	/	20 (26.7)	/	20 (8.3)
Médecine Interne	5 (5.7)	8 (10.7)	/	13 (5.4)
ORL	1 (1.2)	3 (4)	/	4 (1.7)
Endocrinologie	/	3 (4)	/	3 (1.3)
Urologie	/	1 (1.3)	/	1 (0.4)
Total	87 (100)	75 (100)	78 (100)	240 (100)

UMC : Urgence Médicale et Chirurgicale ; ORL

Parmi les souches étudiées, 232 soit 96.7% (232/240) ont été isolées à partir de différents sites sur patients hospitalisés, comprenant les plaies (37.5%), les sondes urinaires (21.3%), les aspirations trachéales (17.9%), les prélèvements rectaux (15.8%), les sondes gastriques (3.8%) et les cathéters (0.4%), et 8 soit 3.3% (8/240) ont été isolées à partir de l'environnement (**Tableau 7**).

La répartition des souches d'*E. coli* selon les sites de prélèvement était différente en fonction des hôpitaux.

Tableau 7 : Répartition des souches d'*E. coli* selon les sites de prélèvement

CHU Site de prélèvement	Tlemcen (%)	Sidi Bel Abbes (%)	Oran (%)	Total (%)
Plaie	24 (27.6)	43 (57.3)	23 (29.5)	90 (37.5)
Sondes urinaire	12 (13.8)	16 (21.3)	23 (29.5)	51 (21.3)
Sonde gastrique	0 (0)	6 (8)	3 (3.8)	9 (3.8)
Prélèvement rectal	29 (33.3)	0 (0)	9 (11.5)	38 (15.8)
Aspiration trachéale	20 (23)	4 (5.4)	19 (24.4)	43 (17.9)
Cathéter	1 (1.2)	0 (0)	0 (0)	1 (0.4)
Environnement*	1 (1.1)	6 (8)	1 (1.3)	8 (3.3)
Total	87 (100)	75 (100)	78 (100)	240 (100)

*Environnement : poignée de porte, bord de lits, lave mains, chariot, table de bloc chirurgical, mur.

Résistance aux antibiotiques

Sur l'ensemble des souches étudiées, les résultats de l'antibiogramme et des CMI ,ont révélé une bonne activité des carbapénèmes (ertapénème et imipénème), de la colistine, de l'amikacine, de pipéracilline/tazobactam et de céfoxitine avec respectivement 100%, 97.5%, 92.9%, 87.9% et 87.1% de bactéries sensibles. Pour les autres antibiotiques, des différents taux de résistance ont été observés, ils varient de 20.4% à 70.8%.

La résistance d'*E. coli* aux antibiotiques varie en fonction des hôpitaux (**Tableau 8**).

Il est nécessaire de préciser que les 6 souches résistantes à la colistine (CMI > 2µg/ml) ont été isolées au CHU de Sidi Bel Abbès.

Tableau 8 :Taux de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli*

n = nombre total de souches.

Antibiotiques	Taux de résistance (%)			
	Tlemcen n=87	Sidi Bel Abbes n=75	Oran n=78	Total n=240
Amoxicilline	73 (83.9)	45 (60)	52 (66.7)	170 (70.8)
Amoxicilline + acide clavulanique	60 (69)	35 (46.7)	19 (24.4)	114 (47.5)
Ticarcilline	73 (83.9)	45 (60)	52 (66.7)	170 (70.8)
Ticarcilline + acide clavulanique	58 (66.7)	36 (48)	28 (35.9)	122 (50.8)
Pipéracilline	70 (80.5)	42 (56)	52 (66.7)	164 (68.3)
Pipéracilline + tazobactam	21 (24.1)	5 (6.7)	3 (3.8)	29 (12.1)
Ertapénème	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Imipénème	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Céfoxitine	18 (20.7)	6 (8)	7 (9)	31 (12.9)
Céfotaxime	60 (69)	16 (21.3)	22 (28.2)	98 (40.8)
Ceftazidime	56 (64.4)	16 (21.3)	20 (25.6)	92 (38.3)
Céfépime	51 (58.6)	13 (17.3)	20 (25.6)	84 (35)
Aztréonam	57 (65.5)	15 (20)	23 (29.5)	95 (39.6)
Gentamicine	51 (58.6)	13 (17.3)	17 (21.8)	81 (33.8)
Tobramycine	50 (57.5)	15 (20)	17 (21.8)	82 (34.2)
Nétilmicine	29 (33.3)	8 (10.7)	12 (15.4)	49 (20.4)
Amikacine	12 (13.8)	1 (1.3)	4 (5.1)	17 (7.1)
Acide nalidixique	51 (58.6)	25 (33.3)	25 (32)	101 (42.1)
Ofloxacine	49 (56.3)	23 (30.7)	25 (32)	97 (40.4)

Ciprofloxacine	49 (56.3)	19 (25.3)	24 (30.8)	92 (38.3)
Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	55 (63.2)	36 (48)	18 (23.1)	109 (45.4)
Colistine	0 (0)	6 (8)	0 (0)	6 (2.5)

Chapitre III :Résistance d'*E.coli* aux antibiotiques

1.Généralités sur les antibiotiques

1.1. Définition

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules humaines dans notre propos). Ils permettent aux défenses naturelles du corps tel que le système immunitaire, de les éliminer. Ils agissent souvent en inhibant la synthèse d'une cellule bactérienne, la synthèse de protéines, l'ADN, l'ARN, par un agent désorganisant la membrane, ou d'autres actions spécifiques [8]. Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries.

Au départ de molécules naturelles, cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées (semi-synthèse) pour améliorer l'activité et/ou modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels. Aujourd'hui, la plupart des antibiotiques en usage clinique sont donc obtenus par semi-synthèse [9][10].

De 1940 à 2005, on a assisté à la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques dont la chronologie est présentée dans la (**Figure 10**)

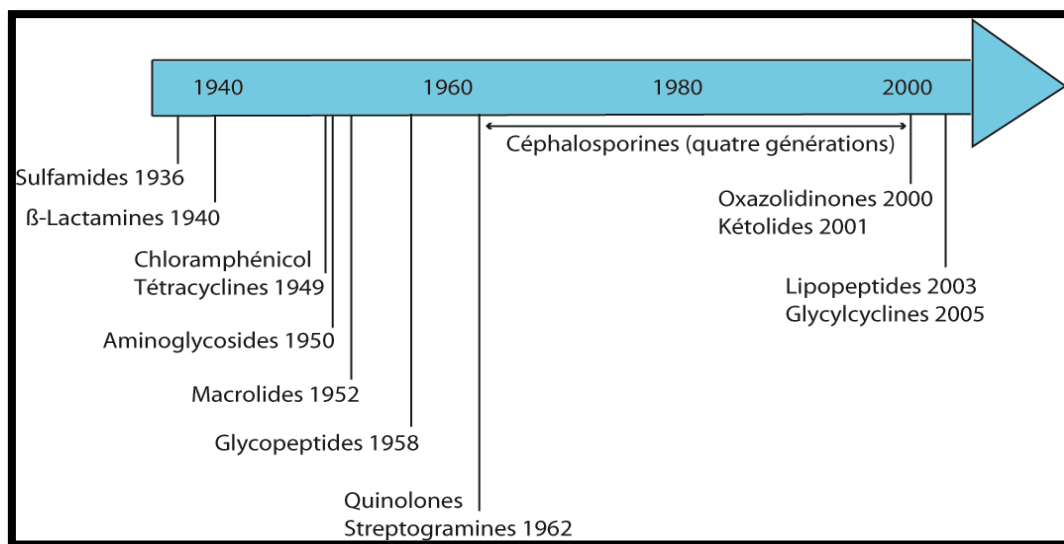


Figure 10 : Ordre chronologique de l'apparition des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique. Adaptée de Walsh (2003) [11]

1.2.Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs modalités de classification des antibiotiques d'utilité variable

- La structure chimique de base : bêtalactamines, aminoglycosides, quinolones, cyclines, ...
- La cible au niveau des bactéries : ribosomes, paroi, ...
- Le mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique, inhibition de la synthèse du peptidoglycane, ...(Tableau 9)
- Le spectre d'activité : groupes bactériens ou espèces sensibles. [12]

Tableau 9 : Classification des antibiotiques selon leur site d'action

mode d'action	Antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	-β-lactamines -Glycopeptides
Modification de la perméabilité de la membrane cytoplasmique	Polymyxines
Inhibition de la synthèse protéique	-Aminosides -Macrolides -Tétracyclines -chloramphénicol
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	-Rifampicine -Quinolones
Inhibition des voies métaboliques de l'acide folique	-Sulfamides Triméthoprim

2. La résistance bactérienne aux antibiotiques

2.1 Définition

La résistance bactérienne est retenue lorsqu'un antibiotique perd sa capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne. Autrement dit, les bactéries continuent de se multiplier en présence de concentrations thérapeutiques d'antibiotiques. [13] A ce moment où les microbes deviennent moins sensibles ou résistants, il faut une concentration supérieure à la

concentration normale du même médicament pour avoir un effet, condition pas toujours possible in vivo.

La résistance aux antibiotiques peut se produire comme un processus de sélection naturelle où la nature permet à toutes les bactéries d'avoir un certain degré de résistance à faible niveau [13]

L'émergence de la résistance aux antimicrobiens a été observée peu de temps après l'introduction de tout antibiotique nouveau [14]

2.2.Phénotypes de résistance :

Quand on étudie la sensibilité d'une souche à plusieurs antibiotiques, on détermine son phénotype de résistance aux antibiotiques. Si la souche n'exprime que des résistances naturelles, on dit qu'elle appartient au phénotype "sauvage" ou sensible.

- Résistance naturelle

Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour 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.

- Résistance acquise

La résistance acquise, souvent médiée par un support génétique faisant partie d'élément mobile (plasmides, transposons), a la faculté d'être transmissible horizontalement parfois entre espèces différentes et elle peut aussi résulter de la modification du patrimoine génétique après mutation, on dit qu'elle est extra-chromosomique. [15]

2.3.Mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques possède des supports génétiques et des mécanismes biochimiques.

2.3.1 Support génétique [16]

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques, les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les

plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra chromosomique [17].

La résistance chromosomique [18]

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, dû au hasard d'une fréquence de l'ordre de 10^{-5} , Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique ; mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible (de l'ordre de 10^{-10}). Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible ; et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique.

La résistance extra chromosomique

La résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. De nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal. Ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmique de « contagieuse ou épidémique ». Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées en permettant l'implantation d'un gène là où celle d'un plasmide échoue. Il est important de noter que la résistance extra-chromosomique étant souvent une multi résistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multi résistantes qui ne sont pas contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique. [19]

2.3.2. mécanismes biochimiques de résistance aux antibiotiques [20][21]

Les mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques peuvent être classés en 4 groupes :

a-Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Ce mode de résistance implique l'inactivation de l'antibiotique (perte d'activité) par une enzyme bactérienne.

Les betalactamases :

Les β -lactamases catalysent l'hydrolyse du cycle β -lactame. Le résultat est une destruction du site actif de la molécule antibiotique [22] [23].

- **Classe A:** enzymes caractérisés par la présence d'une sérine dans leur site actif, elles dégradent préférentiellement les pénicillines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique.

- **Classe B:** métallo-enzymes qui ne sont actives qu'en présence de Zn^{2+} .elles sont donc inhibées par des agents chélateurs de cations bivalents. Ces enzymes ont généralement un large spectre d'activité, elles sont impliquées dans la résistance aux carbapenemes .

- **Classe C:** enzymes présentant surtout une activité sur les céphalosporines.

Ils ne sont pas inhibés par l'acide clavulanique. C'est la cloxacilline qui permet in vitro d'inhiber leur production par la bactérie, permettant ainsi de les caractériser.

- **Classe D:** ces enzymes agissent principalement sur les pénicillines. Ils sont variablement inhibés par l'acide clavulanique. Leur mise en évidence in vitro est difficile par les tests phénotypiques.

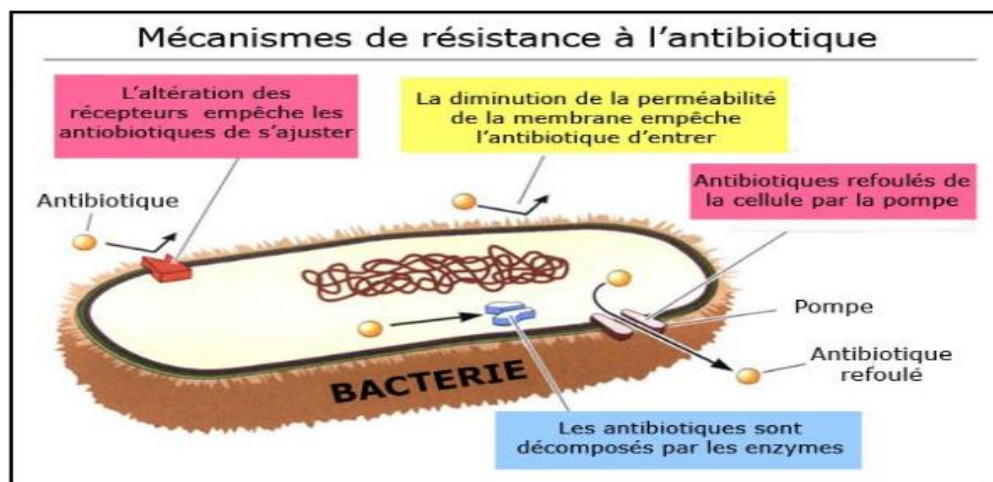


Figure 11 : « Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques ».

Cas particulier de BLSE :

Définition des BLSE :

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes produites par certaines bactéries les rendant résistantes à de nombreux antibiotiques incluant les C3G Etaztréonam. Le gène codant est présent au niveau du chromosome de bactéries particulières et transféré à d'autres populations bactériennes par l'intermédiaire de plasmides. Nombreuses Entérobactéries productrices de BLSE (EB-BLSE) sont connues aujourd'hui, dont *Escherichia coli*. [19][24].

Les enzymes modifiant les aminoglycosides :

Elles se répartissent en 3 classes :

Les N-acétyltransférases (**AAC** : aminoside acétyl-transférase), les O-nucléotidases (**ANT**: aminoside nucléotidyl-transférase), les O-phosphorylases (**APH**: aminoside phospho transférase). Plusieurs enzymes distinctes peuvent inactiver une même position sur la molécule d'aminoglycoside, et une même bactérie peut posséder les gènes codant pour plusieurs enzymes.

Ces gènes sont parfois localisés sur le chromosome (éventuellement, sur des transposons) mais sont le plus souvent portés par des plasmides transférables. On les trouve fréquemment chez *Pseudomonas aeruginosa*, les entérobactéries et les coques à Gram (+). Leur impact clinique est exacerbé par la co-transmission fréquente de β -lactamases. [19].

La chloramphénicol-acétylase

Elle confère la résistance des bactéries Gram (+) et (-) au chloramphénicol.

L'usage de cet antibiotique étant très limité en raison de sa toxicité hématologique.

L'impact de ce type de résistance est faible. Ce gène est, en revanche, utilisé comme outil en biologie moléculaire car il peut être inséré dans un plasmide à transférer dans une cellule eucaryote et permet de vérifier le niveau d'expression des promoteurs en mesurant l'acétylation du chloramphénicol dans le milieu de culture [26].

L'érythromycine estérase

Elle inactive le cycle lactone de l'érythromycine. Ce mode de résistance plasmidique est toutefois assez rare et n'a été décrit que pour des *E. coli* ; bactérie n'entrant pas dans le spectre des macrolides. [27]

Une fluoroquinoloneacétylase

Elle est active sur les molécules présentant un substituant pipérazine a été récemment décrite [28].

b-Altération de la cible bactérienne :

Altération de la cible ribosomiale :

Les antibiotiques qui agissent sur la synthèse protéique peuvent voir leur activité annihilée par une mutation de leur site de fixation sur le ribosome bactérien.

Au niveau de la sous-unité 50S des ribosomes, une méthylation confère la résistance croisée aux macrolides, lincosamides et streptogramines chez *S. aureus*, *S. sanguis*, *B. fragilis*, ou *C. perfringens*. Elle peut être constitutive (MLSb-c) ou inducible (MLSb-i), plasmidique ou chromosomique. De même, une altération de la liaison des tétracyclines d'origine encore inconnue rend résistants les bactéries Gram (+), *Neisseria* et *Campylobacter*. [29]

Au niveau de la sous-unité 30S, une mutation confère la résistance à la streptomycine [29].

Altérations des précurseurs de la paroi :

Les glycopeptides doivent leur action antibiotique à leur liaison aux extrémités D-Ala-D-Ala des chaînes pentapeptidiques des précurseurs de peptidoglycane. Des souches d'entérocoques ont acquis un ensemble de gènes conduisant à la production d'une série d'enzymes permettant la synthèse de peptidoglycane au départ d'un précurseur caractérisé par une extrémité D-Ala-D-Lac à laquelle les glycopeptides ne se lient plus. [30] Suivant le phénotype de la souche, on distingue la résistance induite par l'exposition à la vancomycine ou à la téicoplanine (VanA) ou à la vancomycine seule (VanB et VanC). Le gène VanA confère la résistance à la vancomycine et à la téicoplanine alors que le gène VanB confère la résistance à la vancomycine mais en principe pas à la téicoplanine puisque celle-ci n'est pas inductrice. Le gène VanC ne confère la résistance qu'à la vancomycine. [31]

Altérations d'enzymes-cibles :

Les antibiotiques inhibiteurs d'enzyme sont rendus inactifs lorsqu'une mutation de l'enzyme-cible y empêche leur liaison.

- La résistance aux β -lactamines peut être due à une diminution de l'affinité de leur liaison aux PBP suite à une mutation de celles-ci, ou à une diminution de leur nombre. Ces deux

mécanismes peuvent se rencontrer chez les Gram (+) alors que seule la réduction d'affinité est documentée chez les Gram (-). L'exemple le plus connu de ce type de résistance est constitué par les MRSA (MethicillinResistant*S. aureus*) appelés aussi SARM. [32]

- La résistance aux sulfamides et au triméthoprim est le plus souvent due à la production de dihydroptérate synthase (plasmidique) ou de dihydrofolateréductase (chromosomique ou plasmidique) modifiées et ne liant plus l'antibiotique [33].

- La résistance aux fluoroquinolones peut être due à la mutation de l'ADN gyrase, qui empêche la formation du complexe ternaire fluoroquinolone - gyrase -ADN. Ce mode de résistance est décrit pour *P. aeruginosa*, les entérobactéries, *E. coli* et les Gram (+) [34].

c-Altération de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie :

Altération des membranes bactériennes :

La membrane externe des bactéries Gram (-) peut constituer une barrière à la pénétration

des antibiotiques. En effet, le passage de petites molécules hydrophiles n'est possible que grâce à la présence des porines qui forment des canaux hydrophiles à travers cette membrane.

En revanche, des molécules trop volumineuses ou insuffisamment hydrophiles ne pourront emprunter cette voie d'accès et ne pénétreront que modestement dans les bactéries.

Toute mutation affectant une porine va perturber la pénétration de l'antibiotique dont elle permet l'entrée. Il existe ainsi des défauts de pénétration des β -lactamines principalement, mais aussi des aminoglycosides, du chloramphénicol ou des quinolones [19][35].

La membrane interne porte elle aussi des transporteurs susceptibles de favoriser la pénétration des antibiotiques. Ainsi, les aminoglycosides polycationiques et donc très hydrophiles nécessitent l'intervention d'un transporteur anionique actif pour rejoindre leur cible intracellulaire. Un traitement au long cours par un aminoglycoside peut induire une résistance réversible par altération du système de transport [19].

Efflux de l'antibiotique :

Une réduction de l'accumulation intra-bactérienne suite à l'expression d'un transporteur actif qui expulse l'antibiotique hors de la cellule bactérienne, a été décrit pour la première fois vis-à-vis des tétracyclines. Aujourd'hui, il apparaît qu'il s'agit d'un mécanisme de résistance

extrêmement répandu et capable de réduire l'activité de la quasi-totalité des classes d'antibiotiques (par exemple, macrolides, fluoroquinolones, sulfamides, aminoglycosides...) [36]

Le système d'efflux est un système général de détoxification des cellules eucaryotes et les bactéries. Il est destiné à évacuer les substances « jugées toxiques » par la cellule : les cytostatiques anticancéreux, les antibiotiques, ... [19].

De façon inquiétante, on décrit à présent des pompes capables de reconnaître plusieurs classes d'antibiotiques et donc responsables d'une résistance croisée. Ces pompes sont particulièrement présentes chez les bactéries à Gram-négatif, comme *Pseudomonas aeruginosa*. Ainsi, sont substrats de la seule pompe MexABOprM: Les β -lactames, l'acide fusidique, les tétracyclines, les macrolides, les lincosamides, le chloramphénicol, la rifampicine, les fluoroquinolones et les sulfamidés. Par ailleurs, une bactérie peut aussi exprimer plusieurs pompes et donc résister de la même façon à davantage de classes d'antibiotiques, y compris la colistine chez les bactéries Gram (-) [19] (**Figure 12**).

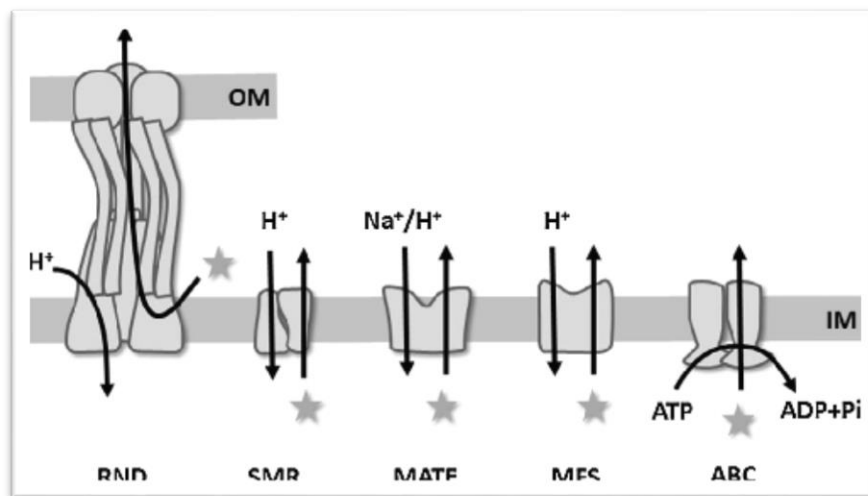


Figure 12 : Représentation schématique du système d'efflux

ABC = ATP Binding Cassette; RND = Resistance Nodulation and cell Division; MFS = Major Facilitator Superfamily; MATE = Multi AnTimicrobial Extrusion; SMR = Small MultidrugResistance; IM = Internal Membrane; OM = Outer Membrane.

3. Mécanisme de résistance d'*E.coli* aux différentes familles d'antibiotiques

E.coli est comme toutes les entérobactéries présente une résistance naturelle à la famille des glycopeptides et à la pénicilline G. Elle appartient au groupe 1 des entérobactéries qui sont naturellement sensibles aux bétalactamines . [36]

3.1.Les Bétalactamines

3.1.1.Généralité :

Les β -lactamines ont été les premiers antibiotiques découverts. Par conséquent, ils ont été utilisés pour contrer toutes les maladies infectieuses à partir des années 40 et leur efficacité a été largement prouvée durant la seconde guerre mondiale. Elles ont été isolées à partir d'un *Penicillium*. Les β - lactamines regroupent plusieurs familles d'antibiotiques car leurs structures moléculaires sont proches : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes ainsi que les monobactames.

3.1.2.Les différentes familles de β -lactamines et leurs mécanismes d'action

-Pénicillines

Il s'agit d'un groupe de molécules, ayant en commun le noyau pénème, qui est caractérisé par un pentacycle saturé (cycle thiazolidine) associé au noyau β -lactame. Selon la nature de la chaîne latérale, on a défini plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam) [37]

- Céphalosporines

Leur noyau de base associe un cycle β -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former le noyau céphème. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables [37]. On distingue ainsi:

-Les céphalosporines de première génération (C1G) : elles sont plutôt actives sur les bactéries à Gram positif. Exemples : céfalotine, céfazoline et céfalexine ;

-Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) : elles ont un spectre étendu vers les bactéries à Gram négatif. Exemples : céfamandole, céfuroxime, céfoxitine et céfotétan ;

-Les céphalosporines de troisième génération (C3G) : elles ont un spectre étendu à la plupart des entérobactéries. Exemples : céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et céfopérazone ;

-Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) : elles sont relativement stables à l'hydrolyse des céphalosporinases. Elles restent actives sur les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase. Exemples : céfépime et cefpirome [37]

- Les pénèmes

Les pénèmes se caractérisent par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé collé au cycle β -lactame. En fonction de l'hétéroatome fixé en position 1, on distingue trois groupes : les sulfopénèmes, les carbapénèmes et oxapénèmes. Les carbapénèmes possèdent un très large spectre antibactérien associé à une grande stabilité envers la quasi-totalité des β -lactamases. Elles sont considérées comme traitement de choix des infections sévères à bactéries à Gram négatif. Quatre molécules commercialisées : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et le doripénème.

- Monobactames

Se caractérisent par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle β -lactame. L'aztréonam est le seul monobactame commercialisé [37] . Il montre une très bonne activité contre les bactéries à Gram négatif aérobies et plus particulièrement contre les entérobactéries, pour lesquelles il possède une activité comparable à celle des céphalosporines de troisième génération en raison de sa bonne stabilité vis-à-vis des β -lactamases .

Les β -lactamines agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des trans-peptidases) impliquées dans la synthèse de la paroi [18]. Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre les PLP et les β -lactamines induit un blocage des réactions de Trans glycosylation et trans-peptidation consécutive à l'acylation des PLP par les β -lactamines , ainsi qu'une stimulation de l'activité des autolyses (enzymes impliquées dans les renouvellements de la paroi) [38].

3.1.3.Mécanisme de résistance aux bétalactamines

Dans le cas d'*E. coli*, certains enzymes sont souvent associées à la résistance aux β -lactamines.

-Les pénicillinases : qui sont plasmidiques et elles peuvent être de bas niveau et donc responsables d'une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, ou de haut niveau et donc responsables d'une résistance non seulement aux trois antibiotiques cités mais aussi aux molécules possédant des inhibiteurs de β lactamases ainsi qu'au céphalosporines de première et deuxième génération [39] .

-Une enzyme dite TRI (pour TEM résitant inhibiteur) qui hydrolyse non seulement le cycle β - lactame (**Figure 13**), mais aussi l'inhibiteur des β - lactamases et qui sera donc responsable d'une résistance aux aminopénicillines, aux uréidopénicillines, aux carboxypénicillines et aux inhibiteurs de β - lactamases [39].

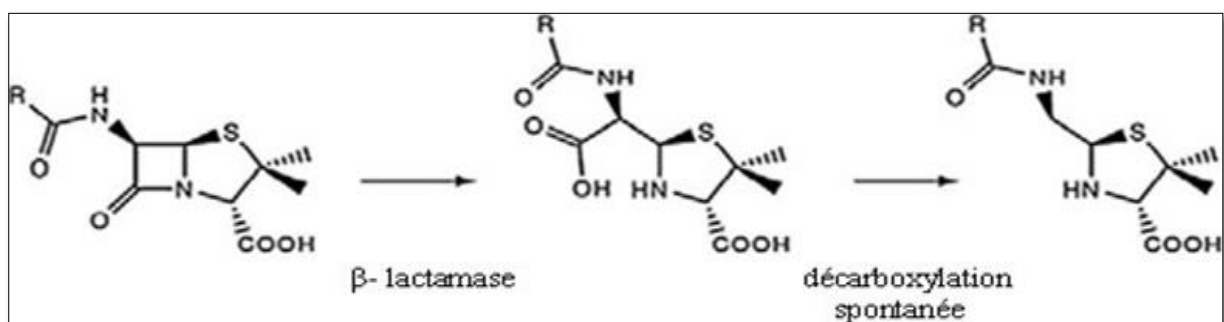


Figure 13: Mécanisme d'hydrolyse d'une β -lactamine par une β -lactamase. [40]

-Céphalosporinases : *Escherichia coli* possède une céphalosporinase chromosomique qui contrairement aux *Enterobacter* est rarement dérégulée. Toutefois comme toutes les entérobactéries *E.coli* peut acquérir une céphalosporinase plasmidique appelée β les (β lactamase à spectre étendu) qui est responsable d'une résistance à toutes les β lactamines à l'exception de l'imipénème. Toutefois concernant le céfepim et la ceftiofime, une activité de ces deux antibiotiques reste possible mais le microbiologiste dans son interprétation rendra ces deux molécules comme inactives. [41]

Les BLSE : sont des β -lactamases capables de conférer une résistance aux pénicillines, les céphalosporines de première, deuxième (excepté les céphamycines) et troisième génération, elles sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases tel que l'acide clavulanique. Plusieurs β -lactamases de type OXA sont également considérées des BLSE à cause de l'extension de leur spectre d'hydrolyse vers les céphalosporines à spectre élargi malgré qu'elles sont mal inhibées par le clavulanate [42]. Les BLSE les plus identifiées au passé sont les BLSE de type TEM et SHV qui dérivent, par mutation, des β -lactamases à spectre étroit [43]. Les BLSE de type SHV

sont considérées, jusqu'à présent, les BLSE les plus répandues quoi que les TEM soient également largement identifiées [44] [45]. La nature des mutations détermine le spectre d'hydrolyse de l'enzyme et permet de les classer en ceftazidimases qui confèrent un taux de résistance plus élevé à la CAZ qu'au CTX telles que TEM-5 et 24 et SHV-4 et 5 et en céfotaximases qui hydrolysent mieux le CTX que la CAZ telles que TEM-3 et SHV- 2 [43]. De nouvelles BLSE, non TEM et non SHV, ont apparu en cliniques [46]. Ces enzymes confèrent une résistance à toutes les β -lactamines hormis les céphamycines et les carbapénèmes. La plupart des CTX-M confère une résistance de haut niveau au céfotaxime et ceftriaxone mais le niveau de résistance au céfépime et cefpirome est variable [47]

Le type de BLSE que l'on trouve généralement est Temoneira (TEM). Environ 90% des *E.coli*, qui sont résistants à l'ampicilline, sont survenus en raison de la production de TEM-1. Ce type a la capacité d'hydrolyser la pénicilline et de céphalosporine première génération. Bien qu'il se trouve habituellement dans *E. coli*.

-Carbapénèmases

Les carbapénèmases représentent la famille la plus versatile des β -lactamases, avec un spectre large supérieur à celui des autres enzymes hydrolysant les β -lactamines [48]. Actuellement, ces enzymes sont rares mais sont une source de préoccupation considérable, car elles sont actives non seulement sur les oxymino céphalosporines et les céphamycines mais aussi sur les carbapénèmes. Elles appartiennent à deux familles moléculaires qui se distinguent par leur mécanisme d'hydrolyse et leur site actif : les carbapénèmases à serine et les carbapénèmases à zinc [48]

3.2.Les Quinolones

3.2.1.Définition

Les fluoroquinolones sont des quinolones de deuxième génération couramment utilisés pour traiter les infections urinaires et pulmonaires .Ces antibiotiques comprennent : Ciprofloxacin, Gemfloxacin, Norfloxacin.

3.2.2.Mécanisme d'action

Dans le cas des infections dues à *E. coli*, les fluoroquinolones sont utilisés à titre curatif. Les quinolones exercent leur effet antibactérien en empêchant l'ADN bactérien de se dérouler et de se dupliquer. Plus précisément, ils inhibent l'activité ligase des topoisomérases de type II, de la

topoisomérase IV et de la gyrase, avec leur activité ligase interrompue, libèrent de l'ADN avec des cassures simple et double brin qui conduisent à la mort cellulaire.

3.2.3.Mécanisme de résistance

Deux principaux mécanismes de résistance aux quinolones chez *E.coli* s'exercent séparément ou en combinaison et confèrent des niveaux de résistance variables.

- La résistance par mutation chromosomique qui est due, soit à la diminution d'affinité des cibles intracellulaires qui sont les complexes ADN-ADN gyrase et ADN-ADN topoisomérase IV, soit à la diminution d'accumulation intracellulaire de l'antibiotique, par défaut de pénétration passive et/ou excrétion active [49]. La perte d'affinité pour la cible provient de modification structurale dans une région appelée la QRDR (Quinolone Resistance Determining Region), où sont trouvées la majorité des mutations responsables de la résistance aux fluoroquinolones.

- la résistance plasmidique est due à la protection de l'ADN gyrase de la fixation des quinolones. Cette résistance est décrite pour la première fois en 1998 aux USA chez une souche de *K. pneumoniae* hébergeant un plasmide portant le gène *qnrA* qui code pour une protéine Qnr A [50]. Depuis la résistance plasmidique aux quinolones a été rapportée, les gènes *qnr* ont été identifiés chez différentes espèces d'entérobactéries dans le monde entier et sont souvent associés à la production de β -lactamases à spectre élargi. Six déterminants *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD* et *qnrVC* ainsi que différents variants des protéines QnrA, QnrB, QnrS, QnrD et QnrVC ont été identifiés. Chez *E. coli*, les variants QnrA, QnrB, QnrS et QnrD ont été décrit à travers le monde [51]. Un autre mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones a été décrit chez des souches d'*E.coli* isolées en Chine. Il s'agit de l'inactivation des quinolones par l'acétyltransférase[52], ce variant confère la résistance simultanée aux fluoroquinolones et aux aminosides.

3.3.Les aminosides :

3.3.1.Définition

Ce sont des antibiotiques bactéricides d'origine naturelle (extraits d'actinomycètes) : Streptomycines, Gentamicine ou hémisynthétiques : Amikacine, Netilmicine et Isapémicine. Ce sont des antibiotiques précieux en raison de leur spectre d'action et de leur efficacité. Néanmoins, leur coefficient thérapeutique n'est pas excellent et exige un strict respect des indications ainsi qu'à une surveillance attentive. De plus, leur utilisation est freinée par leur

absence d'activité par voie orale ce qui explique pourquoi les prescripteurs préfèrent des antibiotiques plus maniables. [11]

3.3.2.Mécanisme d'action

Les aminosides exercent leur action par l'inhibition de la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur la sous-unité 30s du ribosome bactérien.

En pratique hospitalière, les aminosides sont les antibiotiques de premier choix dans le traitement des infections nosocomiales graves seuls (infection urinaire haute chez un sujet jeune où les bêta-lactamines sont contre indiqués) ou en association avec un autre antibiotique, le plus souvent un bêta-lactamine dont l'intérêt est de traiter des septicémies et endocardites à streptocoques ,entérocoques où à bacilles gram négatifs. [20]

Les bactéries strictement anaérobies sont résistantes naturellement aux aminosides, pour la résistance acquise elle est en nette augmentation.

3.3.3.Mécanisme de résistance

Les mécanismes de résistance aux aminosides sont :

- Altération de la cible : le mode d'action des aminosides laisse présager la mutation de l'ARN 16S comme moyen de résistance. Trois activités de méthylation de l'ARN 16S modifient le site A aux positions G1405 (N7), A1408 et C1407 (N5) [53] .

- Modification enzymatique de l'antibiotique : lorsqu'un aminoside est modifié par des enzymes bactériennes, sa fixation sur l'ARN 16S peut être affectée et se traduit par la perte de son activité. Les enzymes modificatrices des aminosides sont le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram négatif et positif. Elles ont été regroupées en fonction de la réaction qu'elles catalysent [54]

- o Acétylation d'un groupement aminé [N- acétyltransférase (AAC)].
- o Phosphorylation d'un groupement hydroxyle [O- phosphotransférase (APH)].
- o Nucléotidylation d'un groupement hydroxyle [O-nucléotidyltransférase (ANT)].

- Piégeage de l'antibiotique

Une enzyme modificatrice peut parfois neutraliser l'action d'un aminoside par une liaison affine sans pour autant modifier sa structure. Le piégeage de l'antibiotique a été proposé comme mécanisme responsable du phénotype de résistance à la kanamycine et à la Tobramycine alors

que la Gentamicine et la Nétilmycine restent actives. Lorsque la bactérie produit une grande quantité de la phosphotransférase qui reconnaît la Tobramycine sans la modifier celle-ci peut être piégée dans un complexe enzyme-substrat fonctionnellement inactif [55] .

- Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique

L'accès de l'aminoside à sa cible met en jeu différentes étapes. Compte tenu de leur caractère hydrophile, les aminosides pénètrent la membrane externe d'*E.coli* par les porines [56]. Le passage par la voie lipophile est associé à leur caractéristique polycationique par substitution avec le calcium ou le magnésium de la membrane externe. La deuxième étape consiste à traverser de la membrane cytoplasmique hydrophobe et requérir l'énergie de la force proton motrice produite par la chaîne respiratoire [57].

3.4. La fosfomycine

3.4.1.Définition

La fosfomycine (encore appelée fosfonomycine, phosphomycine ou MK-955) est un antibiotique bactéricide appartient à la famille des acides phosphoniques. Produit par différentes espèces de bactéries du genre *Streptomyces* mais aussi par *Pseudomonas syringae*.

La fosfomycine est indiquée dans le traitement des infections des voies urinaires, notamment dues à *E. coli*, où elle est habituellement administrée en dose unique. [58]

3.4.2.Mode d'action

La fosfomycine agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, la fosfomycine se comporte comme un analogue du phospho-énolpyruvate et inhibe l'enzyme pyruvyl-transférase (ou pyruvate-UDP-N-acétylglucosamine-transférase), ce qui a pour conséquence de bloquer la formation d'acide N-acétylmuraminique, l'un des constituant essentiels du peptidoglycane de la paroi bactérienne. [58]

Le mode d'action de la fosfomycine nécessite sa pénétration intracytoplasmique qui se fait par un transport actif (système de transport de l' α -glycérophosphate et des hexoses monophosphates). L'absence ou l'inactivation (par mutation chromosomique) de ce système de transport actif provoque une résistance à la fosfomycine. [58]

3.4.3.Mécanisme de résistance :

La résistance est consécutive à la production d'une protéine FosB qui hydrolyse la fosfomycine en ouvrant le noyau époxyde. La résistance est apportée par des plasmides ayant le gène de FosB.

En monothérapie, la sélection de mutants résistants est rapide. Ces antibiotiques doivent donc être utilisés en association, sauf exception (dose unique dans le traitement des infections urinaires basses).

La résistance à la fosfomycine apparaît chez *E. coli* à des fréquences élevées in vitro, en raison de la perte des systèmes de transport nécessaires à l'absorption. Chez *E. coli*, l'absorption de la fosfomycine peut être médiée par le système de perméabilité GlpT, dont le substrat principal est l' α -glycérophosphate, et également, lorsqu'elle est induite par le G-6-P, par le système UhpT. Ces deux systèmes sont régulés positivement par l'AMPc, et les niveaux d'AMPc peuvent être abaissés par des mutations dans les gènes *ptsI* ou *cyaA* (qui affecteront également le catabolisme d'une variété de glucides) [58]

3.5.Rifamycine :

3.5.1.Définition

Une rifamycine est un antibiotique de la famille des ansamycines. Ces molécules sont produites naturellement par *Amycolatopsis mediterranei*, la bactérie à partir de laquelle elles ont été isolées, ou produites artificiellement. Elles sont particulièrement efficaces contre les mycobactéries et ont de ce fait été utilisées dans des traitements contre la tuberculose, la lèpre et les infections au complexe *Mycobacterium avium*. Le groupe des rifamycines comprend les médicaments classiques à rifamycine ainsi que les dérivés de rifamycine : rifampicine (ou rifampine), la rifabutine, la rifapentine et le rifalazil.

La Rifampicine est un antibiotique d'hémisynthèse, Elle possède un large spectre antibactérien qui comprend les staphylocoques, les streptocoques et les mycobactéries [59]

3.5.2.Mode d'action :

Ces molécules se lient à la sous unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante et bloquent l'initiation de la transcription de l'ADN bactérien en ARN messager.

3.5.3.Mécanisme de résistance :

Des mutations sur le gène *rpoB* qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase-ADN dépendante entraînent le mécanisme de résistance. Ces mutations altèrent la structure de l'ARN polymérase sur laquelle l'antibiotique ne pourra plus agir.

3.6.Les sulfamides et trimethoprim :

3.6.1.Définition

Les sulfamides sont les premiers agents antimicrobiens de synthèse à avoir été découverts en 1935. La structure moléculaire de ces antimicrobiens est identique à celle de l'acide para-aminobenzoïque (PABA), substrat naturel utilisé par la bactérie pour produire la vitamine B9 (acide folique). Ces produits constituant une famille d'antibiotiques ont eu dans le passé des applications pharmaceutiques de premier ordre, notamment en chimiothérapie antimicrobienne. Ils présentent cependant un risque d'allergie.

3.6.2.Mode d'action :

Les sulfamides et le triméthoprim bloquent à des étapes successives la synthèse des folates et inhibent ainsi les voies métaboliques qui en dépendent. In fine, c'est la production d'ADN, d'ARN et de protéines qui va ainsi être touchée.

Les sulfamides inhibent la dihydroptéroate synthétase (DHPS), précurseur de l'acide dihydrofolique et par ailleurs jouent sur cette même étape le rôle de faux substrat en se substituant à l'acide para-amino-benzoïque, de structure chimique proche.

*Triméthoprim : pas un sulfamide, mais un antibiotique bloquant la synthèse de l'acide folique par inhibition d'une autre enzyme : la dihydrofolate réductase : synergie avec sulfamide qui entraîne une action bactéricide.(**Figure 14**)

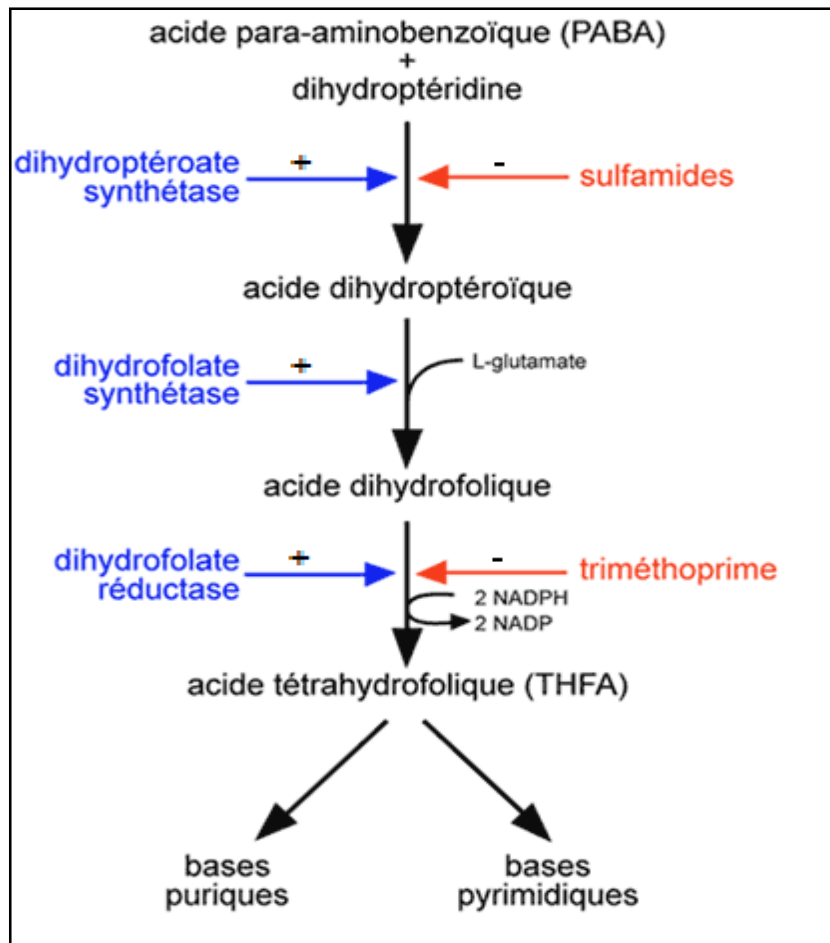


Figure 14: Action des antibiotiques sur une partie du cycle des folates [60]

3.6.3.Mecanisme de résistance :

La résistance aux sulfamides et au triméthoprim a été associée à cinq mécanismes principaux :

- une barrière de perméabilité,
- un DHFR intrinsèque naturellement insensible,
- des mutations chromosomiques spontanées dans les gènes intrinsèques DHPS (folP) et DHFR (folA) impliqués dans les voies de l'acide folique,
- augmentation de la production de l'enzyme cible sensible par régulation positive de l'expression des gènes ou duplication des gènes,
- acquisition de gènes alternatifs DHPS (sul) et DHFR (dfr) avec des intégrons, des plasmides et des transposons [61] [62].

3.7. les tétracyclines

3.7.1.Généralité

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre, connues depuis les années 1960 pour provoquer des colorations dentaires lors de l'odontogénèse. Depuis les années 1990, les traitements contre l'acné inflammatoire modérée à sévère font systématiquement appel aux tétracyclines et ses dérivés semi-synthétiques. [63]

La tétracycline est un antibiotique bactériostatique produit par une bactérie du genre *Streptomyces*.

Les tétracyclines sont actives sur :

- Les germes aérobies à Gram+ : entérocoques, staphylocoque Méti-S, streptocoques A et B
- les germes aérobies à Gram-, *branhameilla catharralis*, *brucella*, *Escherichia coli*, *Hémophilus influenzae*, [63]
- Les germes anaérobies : *propioni bactérium* acnés
- et autres germes comme les : *chlamydiae*, *mycoplasma pneumoniae*, *rickettsie*

Résistance naturelle aux tétracyclines des : *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*

Résistance fréquente aux tétracyclines des anaérobies, entérocoques, streptocoques, staphylocoques, pneumocoques, Hemophilus influenzae.

3.7.2.Mode d'action :

Les tétracyclines traversent la paroi bactérienne soit en empruntant la voie des porines (pour les molécules hydrophiles) ou par diffusion à travers la couche de phospholipides (pour les molécules lipophiles). Le passage de la membrane cytoplasmique nécessite un transport actif. [63]

Les tétracyclines sont des inhibiteurs de la traduction. Elles se fixent sur la sous-unité 30S des ribosomes, s'opposant à la fixation de l'amino-acyl-ARNt sur le site constitué par le complexe ARNm-ribosome, ce qui stoppe la phase d'élongation de la synthèse protéique.

3.7.3.Mécanisme de résistance :

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet. La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont elles, protéger les sites actifs ribosomiaux [63].

4.Récapitulatif des mécanismes biochimiques de résistance aux principaux antibiotiques : (Tableau 10)

Tableau 10 : Récapitulatif des mécanismes biochimiques de résistance aux principaux antibiotiques

Mécanisme	Inactivation enzymatique	Modification de la cible	Efflux	Imperméabilité
Les β lactamines	La production des β -lactamases.	Une altération des PBP peut réduire leur affinité pour les β lactames.	Un efflux actif à l'aide de transporteurs peut conférer un niveau modéré de résistance à la plupart des β lactames. Il se rencontre surtout chez <i>P.aeruginosa</i>	se rencontre chez les Gram (-) et confère une résistance aux β lactames trop hydrophiles pour diffuser à travers la membrane externe (céphalosporines ; pénicillines à Large spectre).
Les macrolides	Décrit uniquement chez <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), implique la production d'enzymes (érythromycine estérases)	plus préoccupant dans les souches de Staphylocoques et de Streptocoques.	La résistance par efflux est le mécanisme le plus fréquent de résistance chez <i>Streptococcus pyogenes</i> , mais il est également présent chez <i>S.pneumoniae</i>	

Les aminosides	C'est le mécanisme de résistance le plus courant.	Une diminution de l'affinité de l'aminoglycoside pour sa cible ribosomiale est liée à la production d'une méthylase. On les retrouve Actuellement essentiellement chez les bacilles Gram(-) non fermentant et les entérobactéries.		Une imperméabilité de la bactérie est responsable d'une résistance croisée à tous les aminoglycosides . Elle se rencontre chez certaines souches de <i>Staphylococcus</i>
Les quinolones		Ce mécanisme dépend de la production d'une protéine qui lie les fluoroquinolones et elle est capable de les déplacer de leur liaison à l'ADN gyrase ou à la topoisomérase IV. Ce mécanisme se répond chez les Gram(-).	L'acquisition ou la surexpression d'une pompe à efflux fonctionnant par échange contre les protons réduit la concentration des fluor-quinolones dans la bactérie.	Une imperméabilité de la bactérie par réduction de l'expression du gène codant pour les porines.

Chapitre IV: Formes cliniques, traitement et prévention

1. Formes cliniques

Les symptômes provoqués par une infection à *Escherichia coli* dépendent de la souche responsable. Néanmoins, l'*E. coli* entraîne généralement des infections intestinales ou urinaires (elle est aussi responsable de méningites ou de septicémies quoique plus rarement) [64] :

- Infections intestinales

-l'*E. coli* entéro-toxique responsable de la turista :elle donne ,chez la majorité des patients, une diarrhée liquide sans fièvre et sans sang, qui dure environ trois à quatre jours et s'accompagne d'un ou de plusieurs autres symptômes : Crampes abdominales ; nausées et vomissements ; fièvre. [65]

-l'*E. coli* entéro-invasive (ECEI) : elle cause la dysenterie bacillaire, une infection aigue ulcéreuse du gros intestin. Les bactéries envahissent les cellules du colon et provoquent une diarrhée aqueuse (qui peut être sanglante), de la fièvre et des crampes abdominales. Dans les cas graves, la bactérie peut s'attaquer à la muqueuse colique, envahir les cellules épithéliales, se multiplier et provoquer une ulcération de l'intestin. [66]

-l'*E. coli* entéro-agrégative(ECEAgg) :Ces types de souches présentent un mode d'action différent des autres : elles s'accrochent à la paroi intestinale en formant des « amas de brique », elle provoque des diarrhées persistantes et un retard de croissance [67]

-l'*E. coli* entéro-hémorragique(ECEH) : Les symptômes provoqués par cette bactérie apparaissent entre trois et huit jours après l'infection. Il s'agit de douleurs abdominales et de diarrhées, lesquelles peuvent évoluer vers des formes sanglantes (colites hémorragiques).Des vomissements et de la fièvre peuvent aussi survenir. [67]

-l'*E. coli* entéro-pathogène(ECEP): cause une diarrhée liquide aigue abondante, qui est rarement persistante. Les selles ne sont généralement ni sanglantes ni mucoides ni dysentériques. Une faible fièvre, des nausées et des vomissements sont possibles. Elle est responsable de gastro –entérites chez les nourrissons parfois sur un mode épidémique. [66]

- Infections extra-intestinales

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), ne sont pas associés aux infections quand ces souches se trouvent dans le tractus intestinal. Cependant lorsqu'elles colonisent des tissus hors de l'intestin, elles peuvent causer des infections importantes [68].

Les ExPECs peuvent être regroupées en quatre catégories :

-*E. coli* uropathogènes (UPEC) : Ils sont responsables de la majorité (90%) des infections survenant sur un arbre urinaire normal : cystites, pyélonéphrites. facteurs comme l'hémolysine alpha et les sidérophores [69].

-Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés, 15 à 40 % des nouveau-nés atteints décèdent. Un nombre important des survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) [70] .

- *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC) : Certains sérotypes d'*Escherichia coli* (K1 en particulier) sont capables d'induire des infections néonatales graves. Ce sont des septicémies éventuellement compliquées de méningites [71] .

2.Traitements

2.1.Traitement symptomatique :

Le traitement contre l'*E. coli* est principalement symptomatique. Il a pour but de réduire la déshydratation causée par les diarrhées. La prise d'antibiotiques est en revanche fortement déconseillée. En effet, en détruisant les bactéries, les antibiotiques libèrent des toxines dangereuses pour l'organisme. Le traitement doit être souvent adapté selon l'antibiogramme. Le **tableau 11** représente les antibiotiques qui peuvent être administrés.

2.2.Traitements médicamenteux

Le traitement doit être souvent adapté selon l'antibiogramme . Le tableau II représente les antibiotiques qui peuvent être administrés.

Tableau 11:Traitements des infections causées par *E.coli*

Infection	Antibiotique	Posologie	Durée du traitement
Infections urinaires	Triméthoprim sulfaméthoxazole Dérivés des quinolones : -Acide Nalidixique -β-lactamines -Ampicilline	Enfant : 6 mg à 30mg/kg/jour Adulte : 480-2400mg/jour Adulte: 60-100mg/kg/jour Enfant : 100mg/kg/jour Adulte : 2g/jour	7jours pour une cystite 15 à 21 jours(pour une pyélonéphrite)
Septicémies	(02) ATB bactéricides et synergiques tel que l'association : Aminoside • Gentamycine avec Pénicilline • Ampicilline	3-5 mg/kg/jour En intramusculaire 100-150mg/kg/jour En intraveineuse directe	2 à 3 semaines
Diarrhées	Triméthoprim Sulfaméthoxazole Ampicilline	480-960mg/Jour 100-150mg/Kg/Jour	3 à 10 jours

3. Prévention

Pour limiter au mieux une infection à *E. coli* et sa transmission, il est nécessaire de respecter quelques règles d'hygiène plutôt simples :

- respectez la date limite de consommation des aliments ;
- réglez votre réfrigérateur à une température basse (au maximum 4 °C) ;
- nettoyez régulièrement le réfrigérateur à l'eau de javel ;

- cuisez bien les viandes, et surtout la viande hachée de bœuf, « à cœur » (la couleur rosée doit disparaître) en particulier si elles sont destinées aux enfants (la cuisson à 65 °C détruit la bactérie *E. coli*) ;
- lavez soigneusement les légumes, les fruits et les herbes aromatiques, en particulier ceux qui vont être consommés crus ;
- dans le réfrigérateur, conservez séparément les aliments crus des aliments cuits ou prêts à être consommés ;
- réchauffez et consommez rapidement les restes alimentaires et les plats ;
- lavez soigneusement les ustensiles de cuisine (surtout lorsqu'ils ont été en contact préalablement avec de la viande ou des légumes crus) ainsi que le plan de travail ;
- laver les mains systématiquement avant de préparer des repas, avant de passer à table, et en sortant des toilettes. Utilisez du savon ou désinfectez-vous les mains avec une solution hydro alcoolique.

De plus, si vous avez des enfants :

- Les enfants ne doivent pas boire d'eau non traitée (comme l'eau de puits par exemple), et éviter d'en avaler lors de baignades dans de l'eau qui pourrait être contaminée (par exemple les lacs)
- Evitez le contact des très jeunes enfants (moins de 5 ans) avec les animaux de ferme et leur environnement (comme leurs excréments...) ;
- Ne donnez pas de lait ou de produits laitiers non pasteurisés à vos enfants.

✓ **Les règles d'hygiène pour les personnes infectées**

Si vous êtes infecté :

En cas de gastro-entérite, évitez de vous baigner dans des lieux de baignades publiques et de préparer des repas ;

Les personnes souffrant d'une infection à *E.coli* (ou d'une gastro-entérite) doivent éviter les contacts rapprochés avec les personnes à risques et sensibles (notamment les enfants et les personnes âgées), se laver régulièrement les mains et éviter de préparer des repas communs .

I- Matériels et méthodes

I-1-Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude épidémiologique descriptive rétrospective allant du Octobre 2017 jusqu'au septembre 2020.

I-2-Lieu d'étude

L'étude a été menée au service de réanimation polyvalente de CHU Nedir Mohammed Tizi Ouzou – unité Belloua. Ce service a été inauguré le 30 Janvier 2017 par le ministre de la santé pour assurer la réanimation médicale et chirurgicale.

Les prélèvements sont traités au niveau du laboratoire d'analyse microbiologique de l'unité Belloua

I-3-Population ciblée

Cette étude inclut tous les malades hospitalisés au niveau de la réanimation polyvalente de l'unité Belloua Tizi-Ouzou.

I-4-Caractéristique d'étude

-Critères d'inclusion

L'étude a porté sur toutes les souches d'*E.coli* isolées des prélèvements à visée diagnostique, provenant de patients hospitalisés au niveau du service de réanimation polyvalente de l'unité Belloua CHU Nedir Mohammed Tizi-Ouzou. Quel que soit leur âge, leur sexe, leur motif d'admission ou leur durée d'hospitalisation.

-Critères de non inclusion

Les souches isolées d'un même malade et dont le profil de sensibilité aux antibiotiques est identique ont été considérées comme doublon.

-Les critères d'exclusion

Les patients dont les données cliniques sont indisponibles.

-Ethique médical

Notre étude s'est déroulée dans le respect de la confidentialité et l'anonymat des patients.

I-5-Nature des prélèvements

Les souches d'*E.coli* et les autres germes ont été isolées à partir des différents prélèvements tel que : les liquides d'aspiration bronchique, les pus, les urines, les liquides de ponction, les sondes urinaires, les hémocultures, les prélèvements vaginaux.

I-6- Recueil des informations et remplissage de fiche de renseignement

Les informations de chaque patient ont été collectées à partir de son dossier médical qui regroupe tout ce qui concerne son motif d'admission, son traitement en cours, et les bilans qui lui ont été effectués.

Cette fiche comporte : **(Annexe I)**

- Identification de patient, son âge et son sexe.
- Les signes cliniques : le motif d'admission, consultation, ou autre.
- Les facteurs de risque : état physiologique débilitant et gestes invasifs
- l'antibiothérapie précédente et le traitement en cours
- les prélèvements microbiologiques et les germes isolés
- les examens complémentaires biologiques

I-7-Analyse des prélèvements

Etude cytot bactériologique des urines (ECBU)

L'examen cytot bactériologique des urines permet d'affirmer le diagnostic de l'infection urinaire que signifie la présence de germes dans les urines, normalement stérile.

a-Examen macroscopique: Cet examen consiste à visualiser l'aspect de l'échantillon par l'œil nu: couleur, troubles ou clair.

b-Examen microscopique: il comprend un examen cytologique et un examen bactériologique.

a-1 Examen cytologique

Au cours de l'examen, on dénombre les différents éléments contenus dans un volume donné de l'échantillon étudiée dans une cellule à numération. Une cellule de numération est une lame porte objet dans laquelle est creusée une chambre de comptage de volume connu. C'est une lame épaisse en verre, comportant des rigoles et un quadrillage. La cellule de Malassez (**Figure 15**) possède un quadrillage spécifique comportant 100 rectangles Le nombre de chacun d'entre eux est rapporté au ml. A l'état normal les échantillons sont très pauvres en éléments cellulaires: (Les hématies, les leucocytes, les cristaux, les cellules épithéliales et aussi les levures).

_ Après agitation, mettre une goutte de suspension de cellules sur la lame de Malassez et recouvrir d'une lamelle. **(Figure 16)**

_ Sur la lame se trouvent 20 carrés de 0, 5.103 μL de volume, formant des rectangles au croisement des quadrillages.

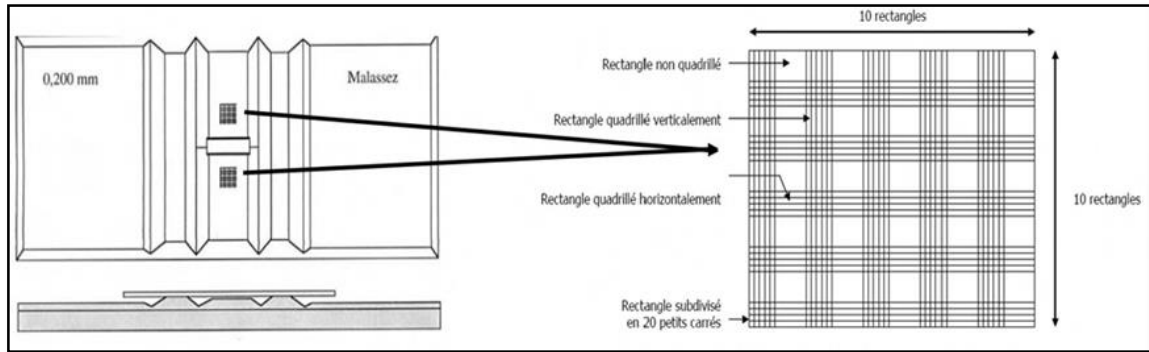


Figure 15: Exemple de lame en verre avec son quadrillage

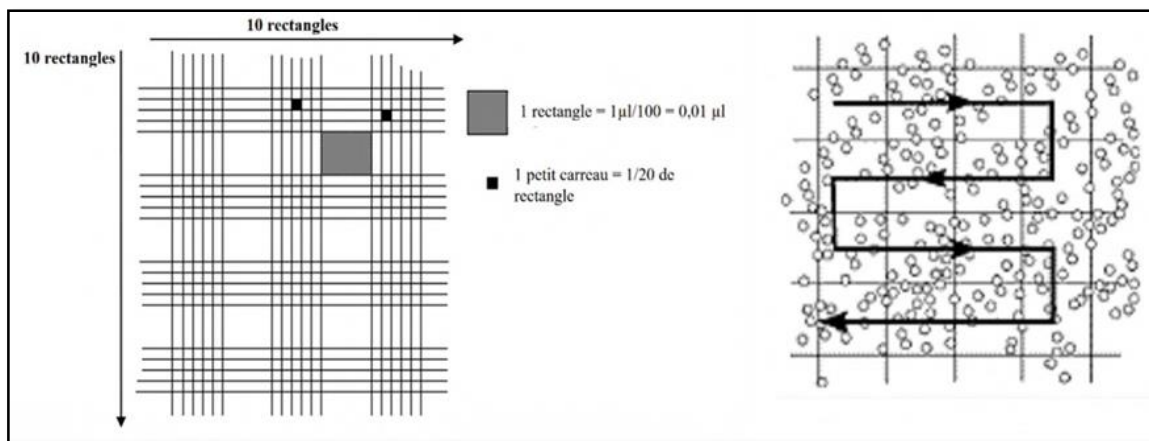


Figure 16: Schéma d'une portion de lamelle.

- Au microscope, compter les cellules présentes dans plusieurs cases.
- Calculer le nombre moyen de cellules par case.
- Ramener ce résultat au nombre de levures par μL ou mL en tenant compte du volume d'une case de la cellule utilisée.

b-2 Examen bactériologique

L'examen bactériologique permet de confirmer ou non le diagnostic d'infection urinaire et de mettre en évidence l'éventuelle souche bactérienne qui en est responsable.

Ensemencement sur la Gélose nutritive et sur gélose Hektoen.

Il permet l'isolement des bactéries et leur numération. il doit être quantitative par ensemencement d'une quantité connue d'urine étalée au râteau sur une gélose nutritive, soit par dilution dans un BGT (bouillon glucosé tamponné) soit avec une anse calibrée (1 microlitre par exemple), et ensemencement de 10ml d'urine par stries sur gélose Hektoen.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, la flore bactérienne totale a été lue sur la gélose nutritive en observant la charge de chaque trait, ainsi, la présence d'*E.coli* a été observée sur gélose Hektoen.(Figure 17)



Figure 17: *E.coli* observée sur gélose Hektoen

Examen cyto bactériologique de pus

Les prélèvements sont d'origines très diverses. La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration, du mode du prélèvement (seringue, biopsie) et du mode de transport.

a-Examens bactériologiques

a-1 L'examen direct après coloration de Gram

Permet d'apprécier l'importance des polynucléaires, l'aspect mono microbien ou poly microbien de la suppuration.

a-2 La mise en culture: nécessite l'utilisation de milieux spécifiques (GSC, HECKTOEN et Chapman.

L'incubation à 37 C° pendant 24h est réalisée dans différentes atmosphères (aérobies, anaérobies).

Hémoculture

1-Intérêt

L'hémoculture est un examen bactériologique qui consiste à rechercher la présence de germes (microbes) dans le sang.

2-Prélèvement

Le prélèvement s'effectue lorsqu'une suspicion d'une bactériémie, et il est conseillé de faire le prélèvement au moment des pics de fièvre ($>38,5^{\circ}\text{C}$) ou d'hypothermie reflétant un état infectieux grave ($<36^{\circ}\text{C}$), ou en présence de frissons (signe de « décharge bactérienne » dans le sang). Le prélèvement doit être répété trois fois en 24 heures, à des intervalles d'au moins une heure, car de nombreuses bactériémies sont « intermittentes ».

a-Examen macroscopique: les signes macroscopiques de positivité d'une hémoculture sont:

- Milieu trouble.
- Présence de bulles de gaz à la surface.
- Sang hémolysé ou noir ou coagulé.
- Présence d'une coloration violette mauve au fond du flacon.

b-Examen microscopique: En présence de l'un des signes de l'examen macroscopique, faire:

- b-1 Un examen microscopique à l'état frais: afin d'observer la morphologie et la mobilité des bactéries.
- b-2 Coloration de Gram: pour déterminer la morphologie des bactéries Cocci/ bacilles, et le Gram positif ou négatif
- b-3 Repiquage et isolement (identification)

La réalisation des repiquages se fait en ensemencant en stries le contenu d'une goutte de bouillon prélevée à la seringue, sur milieu gélose sang cuit.

L'identification du germe se fera selon l'aspect des colonies sur les milieux de repiquage.

I-8 Identification d'*E. coli*

L'examen macroscopique des cultures

E. coli se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux géloses en donnant des colonies rondes, lisses, à bord régulier, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées.

L'examen microscopique d'*E. coli*.

b-1 La coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit

Sur frottis fixé à la chaleur :

- recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute
- rejeter le violet de gentiane et rincer par l'eau
- recouvrir de lugol 1 minute puis le rejeter sans rinçage.
- décolorer à l'alcool, la durée de décoloration à l'alcool est environ 15 secondes selon l'épaisseur du frottis.
- stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau
- recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute puis lavé à l'eau.
- sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur ;
- examiné à l'immersion sous microscope optique grossissement 10×100

Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose. E. coli apparaît sous forme de bacille rose.(**Figure 18**)

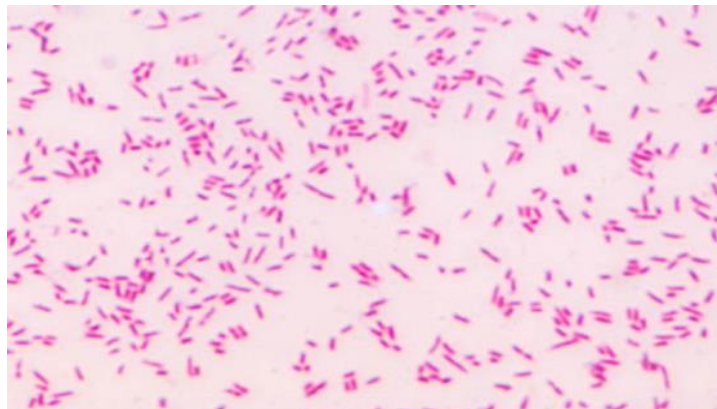


Figure 18 : Observation microscopique des cellules d'E. coli après coloration de Gram (grossissement X 100).

b-2 Identification biochimique :

-Test d'oxydase

C'est un test fondamental d'orientation de l'identification des bacilles gram négatif BGN, le réactif utilisé est le chlorhydrate ou le N-diméthyle paraphénylène diamine PDA en solution (mais il existe aussi imprégné en disque) , la technique est simple :

- Sur une lame en verre ou un autre support en plastique, mais jamais en métal car il peut donner des fausses positives, on dépose un papier filtre imbibé de réactif ;

- Une colonie bactérienne, prélevée avec une pipette pasteur stérile, est déposée sous forme d'un trait sur ce front de diffusion.
- En quelque seconde, si une coloration bleu-mauve apparaît, le test est positif.

dans le cas d'*E. coli* aucune coloration et le test d'oxydase est négatif.

-La mini-galerie biochimique

La galerie API ou également appelée galerie des tests biochimiques miniaturisés se présentent sous la forme d'une série des petits tubes ,nommés tubules , correspond chacun à un test biochimique spécifique. Cette galerie est adaptée à une lecture rapide. (**Figure 19**)



Figure 19 : Galerie biochimique Api 20E d'*E. coli*

-Technique : **Annexe IV**

La galerie biochimique classique

Tableau 12 :Test de mannitol mobilisé

Principe	Aspect du milieu après L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
C'est une gélose molle conditionnée en tube et qui permet simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.		Ensemencement par piqure centrale jusqu'au fond du tube à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24 h.	Fermentation de Mannitol positive: virage au jaune du tube Présence d'une Mobilité : diffusion de part et d'autre de la piqure centrale.

Tableau 13 :Test citrate de Simmons

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	La lecture
Cette recherche est pour identifier des entérobactéries par l'utilisation ou Non du citrate comme seule source de carbone.		L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de pipette par une piqure centrale. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h	1. Virage de l'indicateur de pH du vert au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et le teste : Citrate de Simonne + 2. Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture : la souche est Citrate-

Tableau 14 : Test TSI (milieu triple sucre)

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
. Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non de l'H ₂ S et de noter la production ou non de gaz à partir du glucose.		La pente est ensemencée par des stries serrées et le culot par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24h. Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon afin de permettre les échanges gazeux.	Fermentation positive de lactose : virage au jaune de la pente Fermentation positive de Saccharose : virage au jaune de la région médiane. Fermentation positive de glucose : virage au jaune fond du tube Production de gaz : présence de bulle d'air Production d'H ₂ S : noircissement du tube

Tableau 15 : Test d'urée indole

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
Le milieu urée-indole ou urée-tryptophane est un milieu synthétique complexe fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification des entérobactéries. Ce milieu contient de l'urée comme seule source de carbone. Elle permet la recherche de deux activités enzymatiques : L'uréase, et la production d'indole grâce à une tryptophanase.		L'ensemencement se fait par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'urée après une incubation à 37°C pendant 24h on ajoute quelques gouttes de réactif de Kovacs après on fait la lecture des résultats	Production d'une Uréase : coloration rose violette. Production d'indole : apparition d'un anneau rouge à la surface.

Tableau 16 : Test ONPG

Principe	Caractères recherchés	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Lecture
L'otonitrophénylgalactopyranoside (ONPG) est utilisée ; - Une suspension de bactéries est réalisée en eau distillée. - Un disque d'ONPG est déposé dans cette suspension.	galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.		Milieu sans couleur : ONPG – Milieu jaune : ONPG +

Tableau 17: Recherche de décarboxylase

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
Trois décarboxylases sont fréquemment recherchées : LDC, ODC, ADC Le milieu contient l'acide amine étudié (soit la lysine, soit l'ornitine, soit l'arginine), du glucose et un indicateur coloré, le bromocrésol pourpre . La réaction		On ensemence le milieu Moeller ADH, ODC, LDC. Avec une goutte de suspension . On crée l'anaérobiose par l'addition de l'huile de vaseline, puis on incube à 37 °C pendant 24h.	Un milieu violet trouble correspond à une réaction positive Virage de couleur en jaune réaction Negative

s'effectue en deux
temp .Lorsque le
glucose est fermenté,il
ya virage au
jaune ,lorsque acide
aminé est décarboxylé,
le milieu vire au violet .



b-3 Test de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose à partir de disques d'antibiotiques selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS, 2007). Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

-La technique

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement (gélose nutritive, Hektoen). Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont racless à l'aide d'une pipette Pasteur, déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

- La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à une suspension de référence de 10^7 UFC.

-Le milieu Mueller Hinton (MH), coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm est utilisé, l'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

- Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.

- L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée.

-Trois à quatre disques d'antibiotiques différents sont appliqués par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre. Chaque disque d'antibiotique est appliqué à l'aide d'une pince stérile, le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 24 heures à 37°C.

-Lecture des résultats :

L'inhibition de croissance conduit à la formation d'une zone claire (zone d'inhibition) autours des disques d'antibiotiques. La lecture de l'antibiogramme se fait en mesurant à l'aide d'une règle graduée les diamètres d'inhibition autour des disques en mm, et par la suite on va classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire, résistante.



Figure 20 : Antibiogramme d'*E.coli*

-Les antibiotiques testés :

La sensibilité des différentes souches d'*E. coli* vis-à-vis de 18 molécules d'antibiotiques connues pour être actifs sur cette bactérie, appartenant à différentes familles (Annexe)

b-4 Tests complémentaires de sensibilité aux antibiotiques

La production d'une β -lactamase à spectre étendu :

-Procédure

La recherche des BLSE se fait en déposant un disque de Ticarcilline – Acide clavulanique (TIM) 25 mm centre à centre d'un disque de céphalosporine de 3ème génération :Céftazidime 30 μ g, Aztéoname 30 μ g, et l'Imipénème 10 μ g.

-Lecture

Le teste de synergie est positif s'il y'a apparition d'une image synergie entre les disques

TIM et CAZ

TIM et ATM

TIM et IMP

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE par :

-le rapprochement des disques TIM et CAZ 10 mm au lieu de 25mm ;

-La neutralisation de la Case : si la souche est productrice d'une Case hyper produite, faire le teste de synergie sur MH (Muller- Hinton) additionné de Cloxacilline

Identification des mécanismes de résistance aux carbapénèmes :

- Recherche des carbapénémases de Classe A :

-Principe

Ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique et par l'acide boronique, elles ne sont pas inhibées par l'EDTA ou l'acide dipicolinique.

-Procédure

On peut les détecter par une synergie entre TCC et IMP .

Cependant les souches productrices de ce type d'enzymes sont souvent multirésistantes avec la participation de plusieurs mécanismes de résistance enzymatique ou non.

- Recherche des carbapénémases de Classe B (metalloenzymes) :

-Principe

Il s'agit d'enzymes dépendant du Zn^{2+} et inhibées par l'EDTA.

-Procédure

Consiste à déposer 750 µg d'EDTA (soit 4 µl d'une solution d'EDTA 0,5 M PH =8 sur un disque d'imipénème).

-Lecture

Se fait en comparant le diamètre obtenu avec celui d'un disque d'imipénème seul.

La recherche des oxacillines n'a pas été effectuée en raison du manque de moyens (Temocilline, association Pipéracilline-Tazobactam).

II- Résultats

II-1 L'épidémiologie des infections à *Escherichia coli*

Durant la période d'étude , 148 prélèvements ont été effectués pour les patients hospitalisés au niveau de service de réanimation , 20 prélèvements sont positifs à *E. coli*, soit 13,51% des prélèvements.

II-1-1 Le taux d'*E. coli* au sein des germes isolés

Tableau 18 :Taux des souches d'*E. coli* au sein des germes isolés.

Germe isolé	Effectif	Fréquence %
<i>Escherichia coli</i>	20	17,1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	22	18,8
<i>Staphylococcus spp</i>	19	16,2
<i>Proteus spp</i>	2	1,7
<i>Candida spp</i>	10	8,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	6,0
<i>Klebsiella spp</i>	7	6,0
<i>Enterococcus spp</i>	5	4,3
<i>Streptococcus spp</i>	8	6,8
<i>Corynebacterium spp</i>	4	3,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	4,3
Autres	8	6,8
Total	117	100

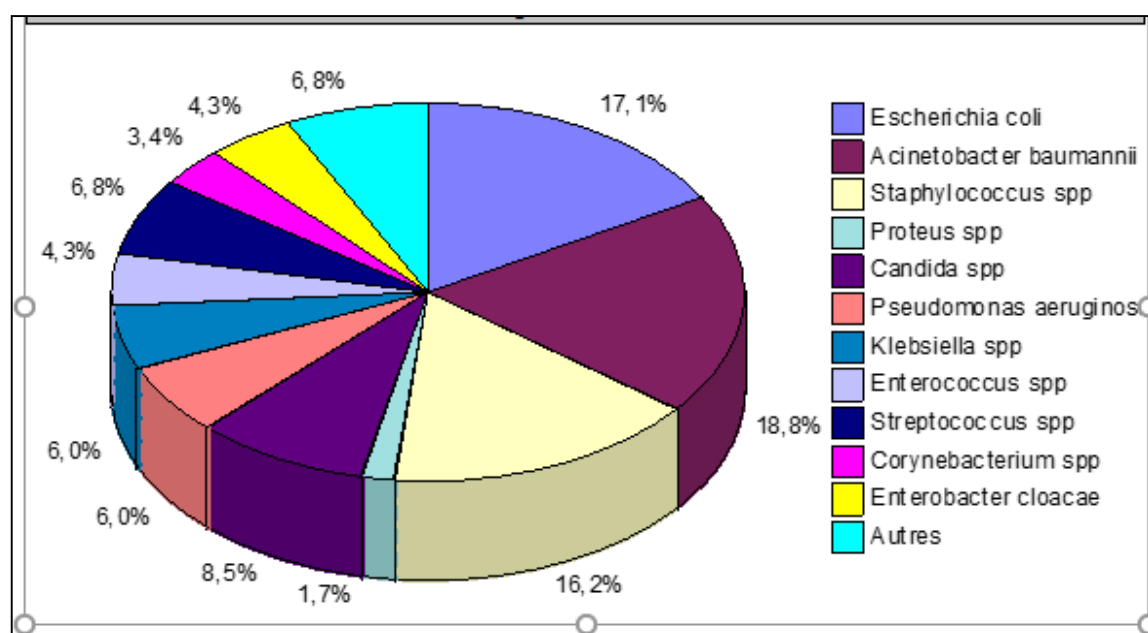


Figure 21 : Taux des souches d'*E. coli* au sein des autres germes isolés

L'interprétation des résultats

Durant la période d'étude *E. coli* représente 17.1 % de l'ensemble de germes isolés(117 germes isolés),donc elle occupe la deuxième place après *Acinetobacter baumannii* qu'elle représente 18,8% des germes isolés.

II-1-2 Le taux d'isolement d' *E. coli* par rapport aux souches hospitalières du 2017 jusqu'au 2020

Tableau 19 :Le taux d'isolement d' *E. coli* par rapport aux souche hospitalières du 2017 jusqu'au 2020

L'année	2017	2018	2019	2020
Le nombre total des souches isolées	8	48	54	5
Le nombre d'<i>E. coli</i> isolé	1	7	8	1
Le pourcentage correspondant	12 ,5%	14,58%	14,81%	20,00%



Figure 22 : Le taux d'isolement d'*E.coli* par rapport aux souches hospitalières du 2017 jusqu'au 2020

Interprétation des résultats

Durant l'année 2017 le taux d' *E. coli* isolée par rapport aux autres souches hospitalières était de 12,5 %, ce taux continu à augmenter pour atteindre 14,58 % en 2018 et 14,81% en 2019. En 2020 le taux d' *E. coli* isolée atteint son maximum soit 20,00%.

II-1-3 Répartition des isolats d'*E. coli* selon la nature de prélèvement

Tableau 20 : Répartition des souches d'*E. coli* selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	Nombre de souche d' <i>E. coli</i> isolée	Pourcentage %
ECBU	13	65
ECB de PUS	4	20
Hémoculture	2	10
PV	1	5
Total	20	100

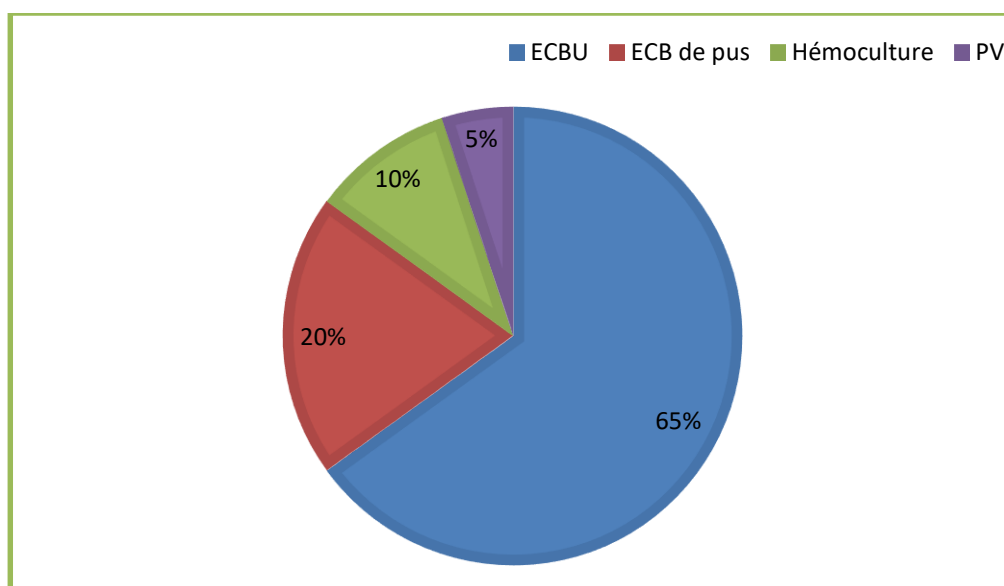


Figure 23 : Répartition des souches d'*E. coli* selon le type de prélèvement

L'interprétation des résultats

La répartition des isolats d' *E. coli* selon la nature de prélèvement a révélé la prédominance des souches au niveau des urines (65% n= 13) suivi par le pus (20% n=4), hémoculture (10% n=2) et en dernier le prélèvement vaginal (5% n=1).

II-2 Les facteurs de risque d'acquisition des infections à *E. coli* chez les patients hospitalisés

II-2-1 Les facteurs liés aux patients :

II-2-1-1 : Le sexe

Tableau 21 : Répartition des souches d'*E. coli* Selon le sexe

Sexe	Nombre des souches d' <i>E.coli</i> isolées	Pourcentage %
Hommes	12	60
Femmes	8	40
Total	20	100

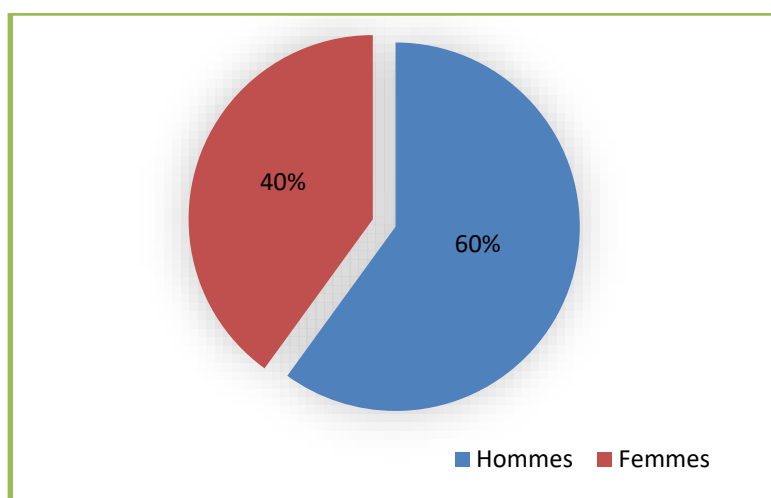


Figure 24 : Répartition des souches d'*E. coli* Selon le sexe

L'interprétation des résultats

La répartition des souches d'*E. coli* Selon le sexe a montré une prédominance masculine avec 12 des souches isolées soit 60% , le sexe ratio H/F est de 1,5 .

II-2-1-2 l'âge

Tableau 22: Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	L'effectif	Pourcentage %
[0-30[	0	0
[30-60[	4	20
≥60	16	80
Total	20	100

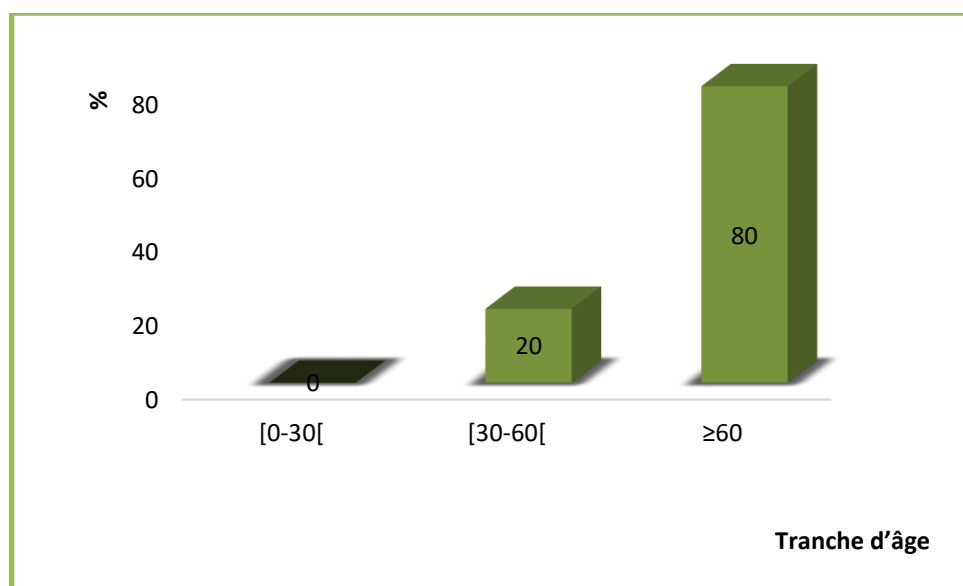


Figure 25 : Répartition des souches d'*E. coli* isolées selon la tranche d'âge.

L'interprétation des résultats

La majorité des souches d' *E. coli* ont été isolées chez des sujets adultes dont l'âge est supérieur à 60 ans , ce qui représente 80% des cas (n=16) suivi par la tranche d'âge entre 30 et 60 ans qui représente 20% (n=4) ,aucun des isolats *E. coli* provenaient de prélèvements réalisés chez des jeunes de moins de 30ans. L'âge moyen de l'infection à *E. coli* dans notre étude est 66 ans avec des extrêmes allant de 40 ans jusqu'à 84 ans.

II-2-1-3 Les antécédents médicaux

Tableau 23: La répartition des patients selon les antécédents médicaux

Antécédents médicaux	L'effectif	Pourcentage %
Atteintes cardiovasculaires	13	65
Pathologies métaboliques	8	40
Atteintes neurologiques	6	30
Pathologies respiratoires	5	25
Atteintes rénales	3	15
Pathologies immunitaires	3	15
Pathologies cutanées	3	15

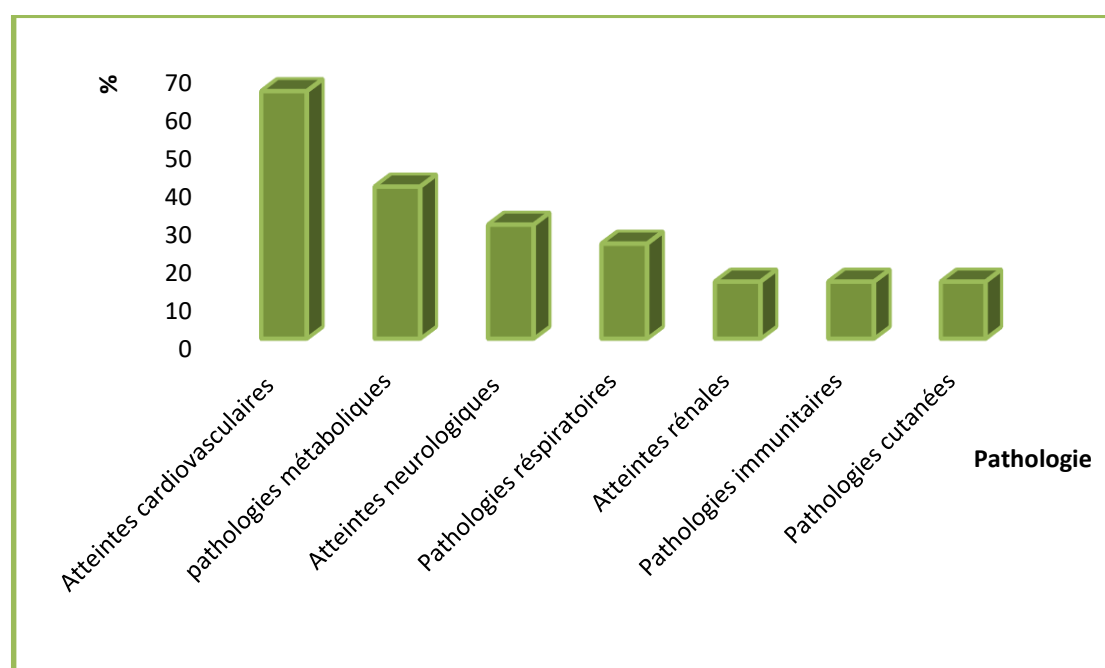


Figure 26 : La répartition des patients selon les antécédents médicaux

L'interprétation des résultats

Chez les patients dont les données cliniques sont disponibles (n=20), on constate que les maladies cardiovasculaires sont les pathologies les plus fréquentes, elles représentent 65% de l'ensemble des patients (n=13), suivies par les pathologies métaboliques qui représentent 40% soit (n= 8).

II-2-2 Les facteurs liés au service

II-2-2-1 Les gestes invasifs

Tableau 24 : Répartition des patients selon les gestes invasifs pratiqués

Geste invasif	Nombre	Pourcentage %
Cathéter	19	95
Sondage urinaire	16	80
Ventilation assistée	14	70
Intubation	9	45
Intervention chirurgicale	7	35
Trachéotomie	1	5

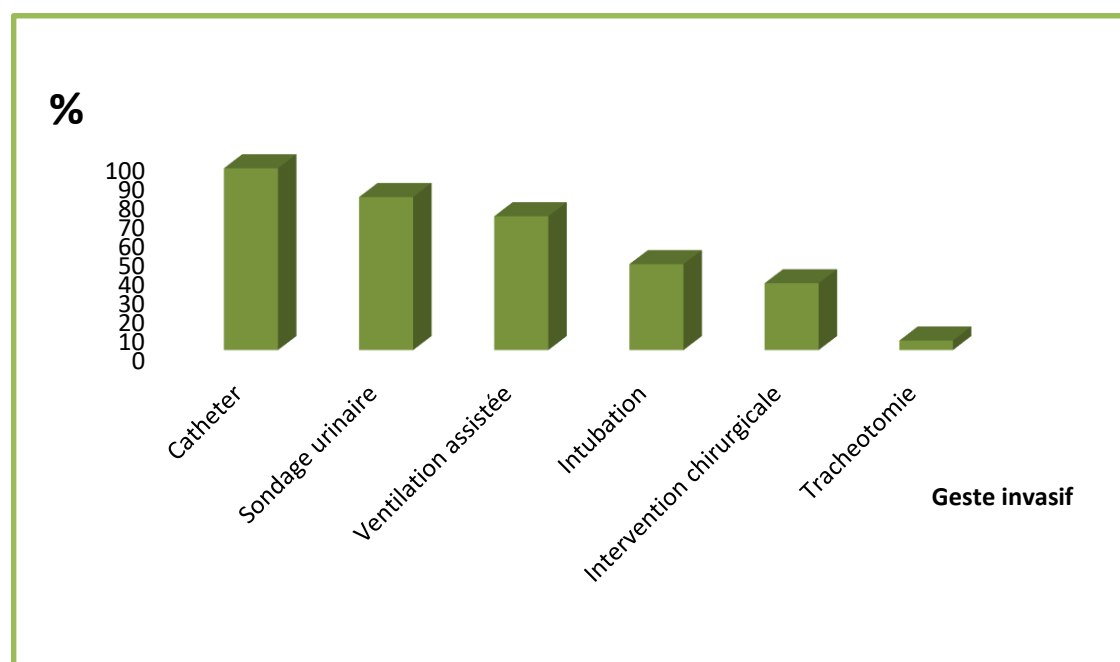


Figure 27 :Répartition des patients selon les gestes invasifs pratiqués.

L'interprétation des résultats

La majorité des patients ont subi un cathéter soit 95%, tandis que 80% des patients ont subi un sondage urinaire, le pourcentage des patients ayant subi une ventilation assistée est de 70%.

II-2-2-2 L'antibiothérapie antérieurs

Tableau 25: L'antibiothérapie prophylactique reçue par les patients

L'antibiotique	Effectif	Pourcentage %
Ciprofloxacine	9	45
Amikacine	7	35
Imipinem	7	35
Cifotaxime	6	30
Metronidazole	5	25
Vancomycine	4	20
Cefazoline	3	15
Gentamycine	2	10
Colistine	1	5

Amoxicilline+Acide clavulanique	1	5
--	---	---

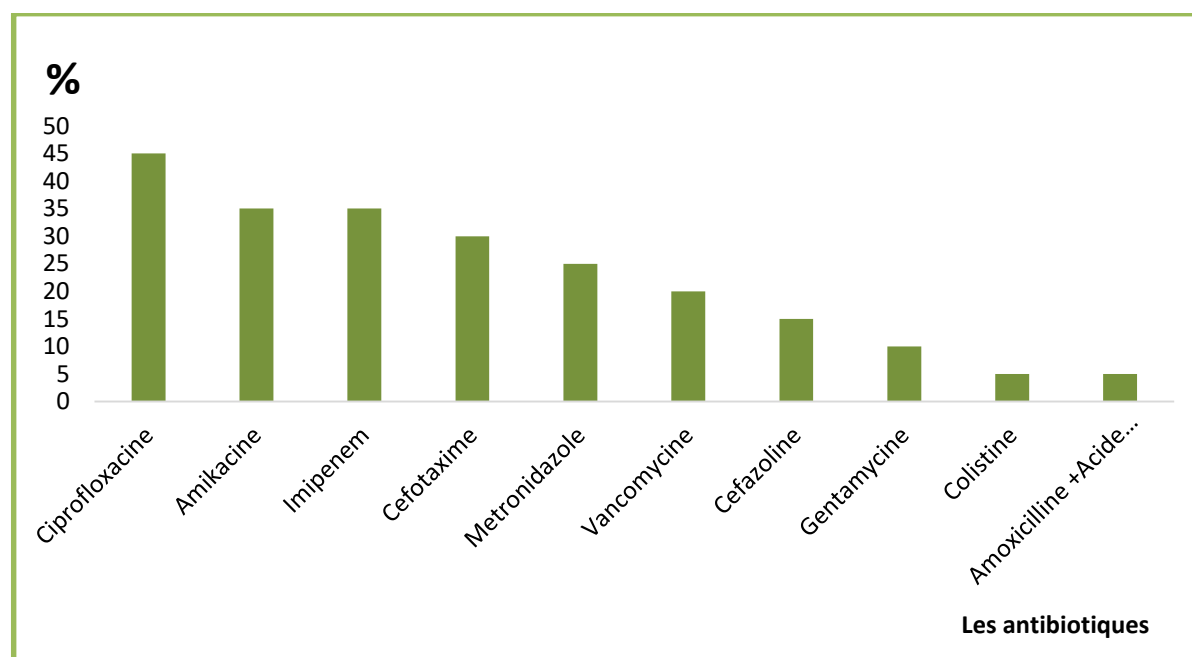


Figure 28 : L'antibiothérapie prophylactique reçue par les patients

L'interprétation des résultats

Tous les patients étudiés n=20 ont eu une antibioprophylaxie. En effet tous ces patients ont reçu des antibiotiques durant la période qui précède l'infection par *E. coli*, il s'agit principalement de la Ciprofloxacin avec 45%, suivi par Amikacin et Imipenem avec 35% pour chacun, en troisième ordre de fréquence viennent la Cefotaxime soit 30%, en quatrième position vient la Métronidazole avec 25%, suivi par la Vancomycine 20 %, Céfazoline 15% ,Gentamycine 10% ,et en dernière position viennent la Colistine et l'Amoxicilline +acide clavulanique avec un pourcentage de 5% pour chacun.

II-2-2-3 La durée d'hospitalisation

Tableau 26: Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation

La durée d'hospitalisation en jours	L'effectif	Pourcentage
<15	4	20
[15-30[	6	30
≥30	10	50
Total	20	100

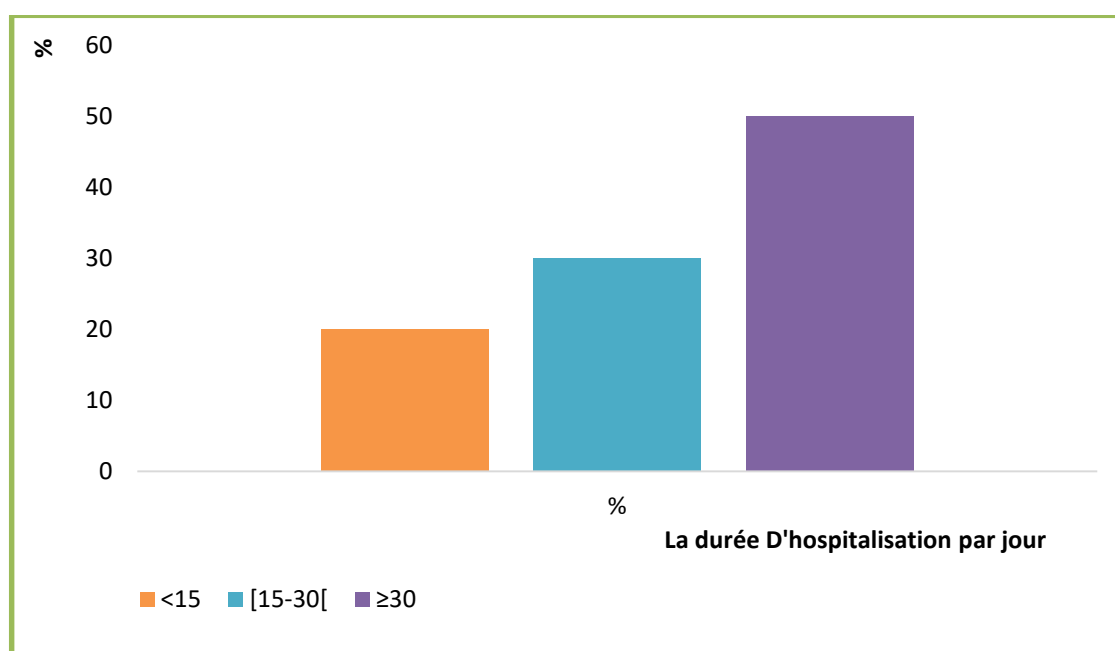


Figure 29 : Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation

L'interprétation des résultats

La fréquence des patients ayant une durée d'hospitalisation ≥ 30 jours est la plus élevée, la durée moyenne d'hospitalisation est de 25 jours avec des extrêmes allant de 2 jours jusqu'à 180 jours.

II-3- taux de résistance d'*E. coli* aux antibiotiques

Tableau 27 : taux de résistance d'*E. coli* aux antibiotiques

Antibiotiques	Nombre des souches		Pourcentage des souches %		Famille	
	R	S	R	S		
Amoxicilline+ A-clavulanique AMC	17	3	85	15	Aminopénicilline	Béta-lactamine
Amoxicilline AMX	18	2	90	10		
Céfazoline CZ	7	13	35	65	Céphalosporine de 1 ^{ère} génération	
Céfotaxime CTX	4	16	20	80	Céphalosporine 3 ^{ème} génération	
Cefoxitine FOX	2	18	10	90	Céphalosporine 2 ^{ème} génération	
Imipineme IPM	0	20	00	100	Carbapinemes	

Gentamycine GEN	1	19	5	85	Aminoside
Amikacine AN	1	19	5	85	
Trimethoprime+ sulfamethoxazole SXT	11	9	55	45	Sulfamides
Chloramphenicole C	3	13	15	85	Phenicoles
Ciprofloxacine CIP	5	15	25	75	Quinolones
A-nalidixique NA	8	12	40	60	

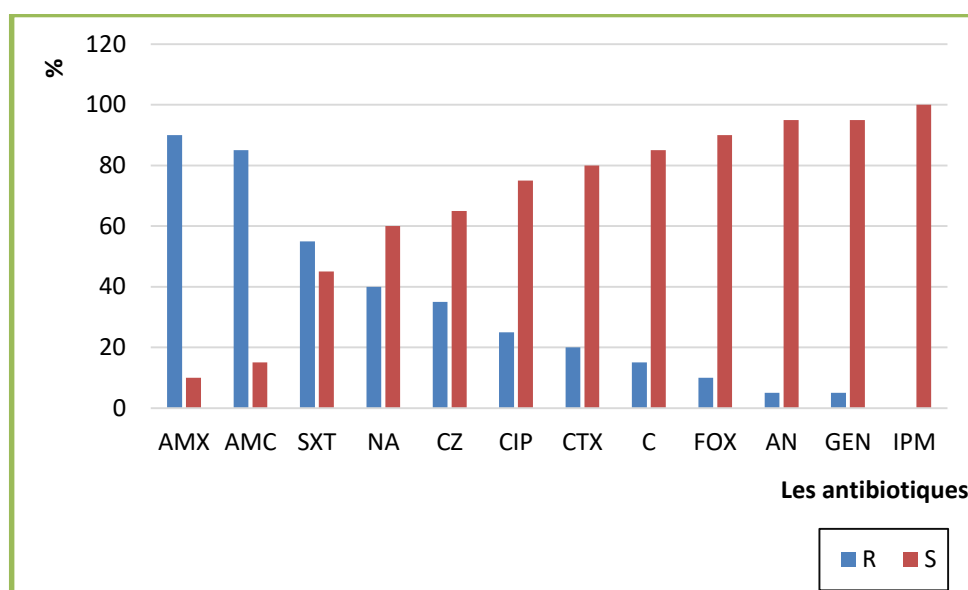


Figure 30 : Taux de résistance d'*E.coli* aux antibiotiques

Interprétation

Les pourcentages de résistances sont très élevés pour Amoxicilline(90%), Amoxicilline+ Acide clavulanique(85%), Trimethoprime+ sulfamethoxazo(55%).

En revanche, les souches restent très sensibles à l'imipénème avec un taux de 100% , suivi par la Gentamycine et l'Amikacine avec un taux de 95% pour chacun , puis la Cefoxitine à 90% , Cefotaxime à 80% , Ciprofoxacine à 75% et enfin Cefazoline avec un taux de 65%.

III- Discussion

III-1-Epidemiologie

Notre recherche a mis en évidence un taux de positivité des prélèvements pour *E. coli* égale à 13,5%, ce qui est comparable au résultats trouvé dans d'autres études faites en Europe, on cite la France comme exemple où ils ont trouvé un taux de 23,2% des prélèvements positifs pour *E. coli*, et ça revient de faite que les patients de réanimation sont les plus exposé aux germes hospitaliers.

III-1-1 La répartition d'*E. coli* au sein des germes isolés

Dans notre étude, *E.coli* vient en deuxième position parmi les germes les plus isolé avec un pourcentage de 17.1% après l' *Acinetobacter baumannii* (18.7%).

Une étude réalisée au service de réanimation à l'hôpital de Fes,Maroc, en 2013,présente des résultats similaires à notre étude avec une prédominance d'*A.baumannii* (25.6%) suivi d'*E. coli* (21.1%).

III-1-2 Répartition des isolats d'*E. coli* selon la nature des prélèvements

Dans notre étude le pourcentage d'isolement le plus élevé de ce germe est observé dans les prélèvements urinaires 65%, provenant de service de réanimation polyvalent, les infections suppurées sont également des sites de prédilection des infections à *E. coli*. dans notre étude elle est de 20%, cela confirme que fait qu'*E. coli* est surtout une bactérie responsable d'infections urinaires avec bactériémies et / ou septicémies. (**Tableau 29**)

Tableau 28 :comparaison de la répartition d'*E. coli* selon la nature de prélèvements

Les prélèvements	France	Tunisie	Algérie(CHU Bejaia)	Notre étude
Urines	80.64%	84.6%	71.11%	65%
Pus	8.88%	5%	28.88%	20%
Hémoculture	7.28%	3.3%	0%	10%

Les chiffres que nous observons sont intriquement liés à la spécificité de service de réanimation polyvalente de l'hôpital Balloua.

III-2 Les facteurs de risque d'acquisition des infections à *E. coli* chez les patients hospitalisés :

III-2-1 Les facteurs liés aux patients :

III-2-1-1 Le sexe

Dans notre étude, une prédominance masculine a été apportée, par contre la plus part des études révèlent un pourcentage d'*E. coli* plus élevé chez la population féminine et cela justifié de faite que la population générale de notre étude est dès le début à prédominance masculine (la plupart des malades hospitalisés aux service de réanimation polyvalente sont des hommes)

III-2-1-2 l'âge

Dans notre étude, nous avons constaté que la fréquence d'isolement la plus élevée est observée chez les patients de la tranche d'âge ≥ 60 ans , ce qui reflète que l'âge avancé est un facteur de risque à ne pas écarter dans l'acquisition des infections nosocomiales, ceci pourrait être expliqué par la vulnérabilité des personnes âgées, en effet ce sont des sujets qui présentent un terrain d'immunodépression non négligeable , qui peut être aggravé en cas de pathologies associées telles que : le diabète, les atteintes multi viscérales, constituant ainsi une porte d'entrée facile du germe. Ceci rejoint les résultats de l'étude faite à Meknès. [79]

III-2-1-3 Les antécédents médicaux

Certaines affections prédisposent au développement des infections nosocomiales, en particulier à bactéries multi résistantes, et ce à cause de la détérioration des défenses de l'hôte et sont considérés comme des facteurs de risque indépendants. [80]

Dans notre étude, on cite les atteintes cardiovasculaires, pathologies métaboliques, atteintes neurologiques, pathologies respiratoires, atteintes rénales et pathologies immunitaires, ceci peut être expliquer par la fragilité de l'état clinique des patients ayant des antécédents morbides graves et leur vulnérabilité quant à la colonisation puis aux infections par les germes résistants.

III-2-2 Les facteurs liés au service

III-2-2-1 Les gestes invasifs

Les gestes invasifs représentent un majeur facteur de risque d'acquisition des germes car ils détruisent les barrières immunitaires. Dans notre étude, la population ciblée présente généralement un état physique débilitant ce qu'il nécessite l'usage des déferents gestes invasifs, nos résultats montrent que le cathéter occupe la première position parmi les gestes les plus utilisés (95%) chez les patients ayant une positivité à *E. coli*. Tandis que le sondage vient en

deuxième position (80%), Autres études ont montré que le sondage urinaire et le cathéter sont les facteurs de risque de la survenue de l'infection nosocomiale et essentiellement à *E.coli*, notamment dans une étude réalisée à l'hôpital Edouard –Herriot de Lyon au service de réanimation qui rapporte que 44% des patients avaient une sonde urinaire [81], cela peut être expliqué d'un côté, par le fait que notre étude est réalisée sur des malades souvent inconscients, ce qu'il demande le sondage. Et d'autre côté, *E.coli* est le chef de file des bactéries responsables d'infections urinaires.

III-2-2-2 L'antibiothérapie antérieurs

L'utilisation des antibiotiques est le facteur de risque le plus important dans le développement de résistances bactériennes [82] [83]. De nombreuses études montrent le rôle prépondérant des antibiotiques dans l'émergence des germes [82] [84], soit en transformant la flore habituelle des patients, soit par pression de sélection.

L'exposition à un traitement antibiotique dans les trois mois précédents l'admission est corrélée de manière significative avec la colonisation par une souche multirésistante.

Nos résultats montrent que 100% des patients de notre étude ont eu une antibiothérapie prophylactique durant la période qui précède l'infection par *E. coli*.

Plusieurs études ont montré que l'utilisation et la durée du traitement par les fluoroquinolones semblent être les facteurs de risque les plus importants d'émergence de résistance aux fluoroquinolones et de résistance croisée [85] [86]. De même l'utilisation des céphalosporines de 3ème génération est considérée comme le facteur de risque le plus important de l'émergence des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu [85].

Une étude cas témoin américaine, réalisée a trouvé que l'exposition préalable à l'ampicilline (OR=3,04) et à l'ampicilline- sulbactam (OR=1,72) étaient les 2 seuls facteurs de risque significativement associés à l'isolement d'une souche d'*Escherichia coli* résistant à l'ampicilline- sulbactam [80]

III-2-2-3 La durée d'hospitalisation

Une durée d'hospitalisation élevée est un facteur d'acquisition des infections nosocomiales. Aux Etats Unis selon l'ATS et l'IDSA les facteurs de risques d'acquisition des germes multi-résistants étaient notamment : l'antibiothérapie et en deuxième lieu l'hospitalisation durant

plus de cinq jours, et aussi un antécédent d'hospitalisation dans un hôpital ou dans une unité de soin.

III-3 taux de résistance et de sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques

E. coli a marqué une évolution importante de la résistance aux antibiotiques en raison de sa capacité à prospérer dans les milieux hospitaliers et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques notamment : les bêta-lactamines à large spectre, les Aminosides et les Fluoroquinolones.

Les résultats pour les aminopénicillines peuvent être rendus avec l'ampicilline ou l'amoxicilline.

Dans notre étude Le taux de sensibilité à cette classe d'antibiotique est faible (sensibilité globale des amoxicilline de 10 %). L'adjonction de l'acide clavulanique ne permet de restaurer la sensibilité que sur 5 % des souches (sensibilité pour l'AMC : 15 %), ce taux reste relativement très bas par rapport à celui rapporté dans d'autres études (**Tableau 30**), donc le taux élevé de résistance au AMC due à la prescription continue de cet antibiotique(augmentin^R) .

Les céphalosporines de 3^{eme} et 2^{eme} génération parentérales gardent une bonne activité avec des sensibilités de 80 % pour le céfotaxime et 75 % pour la cefoxitine, ce taux est comparable par rapport à celui rapporté dans d'autres études.

Les souches restent très sensibles à l'imipénème (100%), ces résultats sont similaires avec les autres études.

En réanimation, la résistance d'*E.coli* à la majorité d'antibiotiques survient plus fréquemment vu le nombre d'antibiotiques prescrits et l'utilisation des procédures invasives.

Tableau 29 : Taux de résistance d'*E. coli* aux antibiotiques dans quelque pays.

ATB \ Pays	Tunisie [77]	Maroc [87]	France [19]	Nos résultats
AMX	68%	69%	48.8%	90%
AMC	12%	55%	31.7%	85%
SXT	47%	45%	22.5	55%

NA	18.5	17.9%	19.4	40%
CZ	30%	42%	23.6%	35%
CIP	16.4%	22%	12.2%	25%
CTX	8.2%	23%	17%	20%
C	13.2%	17%	12.7%	15%
FOX	0.6%	11%	3.7%	10%
AN	0.8%	8%	4.3%	5%
GEN	9.4%	14%	4.8	5%
IPM	0.02%	00%	0.1%	00%

❖ Contraintes au cours de la réalisation de ce travail

- Manque de données dans la littérature concernant ce sujet parce que la plus part des études s'intéressent aux Infections plutôt qu'aux colonisations.
- Variabilité de certains paramètres par exemple l'incidence de colonisation est variable d'une étude a une autre ce qui rend la comparaison entre les études difficile.
- Manque de données de certains paramètres.
- Peu d'études publiées ayant évalué l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* en réanimation.
- La difficulté du télétravail suite au confinement établi face à la pandémie (Covid-19).
- Le service de réanimation polyvalente de Belloua est dédié à la prise en charge des cas atteints de la Covid-19 (Zone d'alerte) ce qui rend le travail difficile dans ce service.

Conclusion

E.coli est une bactérie qui est naturellement sensible à de nombreux antibiotiques et peut aussi acquérir de nombreux mécanismes de résistance causant de réelles difficultés thérapeutiques. C'est dans ce contexte qu'on a réalisé cette étude ; qui est à visée diagnostique, et dans le but :

- d'évaluer la répartition et le profil de résistance des souches d'*E.coli* isolées des différents prélèvements ;

- d'étudier la fréquence de survenue de cet opportuniste parmi les germes isolés au sein du même service ;

- d'identifier les facteurs de risque d'acquisition.

Notre étude sur l'antibiorésistance d'*E.coli* au niveau de service de réanimation du CHU Tizi Ouzou unité Belloua a permis d'apprécier l'efficacité des antibiotiques utilisés. Au cours de cette étude , nous avons obtenu :

- un taux de positivité des prélèvements à *E.coli* égal à 13.51% ;

- un taux de résistance très élevé d'*E.coli* aux aminopénicillines soit 90% .Tandis que , les céphalosporines de deuxième et de troisième génération gardent une bonne activité avec un taux de sensibilité de 80% pour le céfotaxime et 75% pour le céfoxitine.

- Toutefois, aucune résistance à l'imipénème n'a été observée dont la sensibilité est de 100%. Par ailleurs, l'augmentation de l'usage de cette molécule pour le traitement des infections aux souches multirésistantes d'*E.coli* pourrait favoriser l'apparition des mutants résistants.

- Les personnes âgées ayant des antécédents morbides sont vulnérables à l'acquisition d'*E.coli* multirésistante

- En plus de l'antibiothérapie, les procédures invasives (sondage urinaire, cathéter, intubation, intervention chirurgicale) sont des éléments importants à considérer.

- La pression de sélection exercée par l'usage abusif des antibiotiques à large spectre, à longue durée et l'association non contrôlée des antibiotiques sont à l'origine de l'émergence préoccupante des souches d'*E.coli* multirésistantes.

Actuellement, le respect des conditions d'hygiène et la surveillance de la propagation des souches mutirésistantes surtout dans les services à forte prévalence ainsi que le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques «tout en réduisant celles à large spectre», sont utiles et constituent un des facteurs qui va contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des patients.

Enfin ce travail reste préliminaire et l'étude des mécanismes de résistance nécessite le recours à des techniques avancées de biologie moléculaire ; il est à noter que ces techniques d'isolement, d'identification et de la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

En perspective pour compléter notre étude il faut :

- Prendre en compte un nombre plus élevé de prélèvements afin d'isoler un plus grand nombre de souches.

- Etablir une étude statistique afin de déterminer certains facteurs de risque dans l'acquisition de souches résistantes.

- Elargir la gamme d'antibiotique à tester.

- Surveiller les différentes pathologies survenues surtout chez les patients à risque dans les services à haute prévalence par une étude épidémiologique ; notamment dans les services de réanimation.

- Effectuer le génotypage des souches à résistance acquise pour avoir une image plus exacte de la situation épidémiologique .

- Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries antibiorésistantes.

Recommandations

La maîtrise de la dissémination des souches multi-résistantes à l'hôpital et aux unités de soins intensifs surtout, est très importante, vu leur impact en terme de risque accru d'échec thérapeutique, d'augmentation de la durée d'hospitalisation et des coûts liés aux soins.

Afin de contrôler les épidémies produites par *E coli* , il faut d'abord réaliser les analyses moléculaires pour investiguer le caractère clonal de l'épidémie, déterminer le risque de transmission et instaurer les mesures d'isolement de contact.

Prévention

1-Respect des protocoles de soins

L'incidence élevée des infections nosocomiales reflète le niveau de qualité des soins, il est, de ce fait, indispensable d'insister sur le respect des procédures lors des différents soins administrés aux patients.

2-Le lavage des mains

Constitue la procédure principale pour la prévention des infections nosocomiales .Il est estimé que l'alcool éthylique à 70% et la polyvidone iodée à 10% sont efficaces dans l'élimination des germes au niveau des mains contaminées.

3-Désinfection du matériel médical

Outre les règles habituelles de désinfection ou de stérilisation du matériel imposées par son site d'utilisation, l'isolement contact requiert une stricte individualisation du matériel de soin courant qui est fréquemment contaminé par les micro-organismes (gants d'examen, garrot, brassard à tension...), si cela est impossible ou si le matériel ne se prêt pas à une utilisation individuelle, tous doit être nettoyé et désinfecté avec des désinfectants suffisamment actifs.

4- Lutte contre la colonisation cutanée et muqueuse

Les patients qui présentent les facteurs de risques tels que: une durée de ventilation mécanique supérieure à 20 jours et une durée de sondage urinaire et cathétérisme veineux centrale supérieure à 20 jours doivent subir une surveillance de la colonisation par *E coli*. Cette surveillance consiste en des prélèvements urinaires ,sanguines à la fréquence d'une fois par semaine. D'autres sites peuvent faire l'objet de prélèvement, il s'agit du pus, Prélèvement rectal et bronchique.

5- La limitation de l'antibiothérapie antérieure à large spectre

Le début d'une antibiothérapie ne doit se faire que devant une infection documentée (isolement du germe et antibiogramme). Cependant, l'administration d'antibiotique à large spectre avant l'obtention des résultats de l'analyse bactériologique se fait chez les patients ayant un haut risque d'acquisition d'infection aux germes multirésistants et chez lesquels le pronostic vital est engagé, ou bien lors de l'existence de signes évidents de choc septique chez les patients.

Une antibiothérapie empirique inadaptée constitue un facteur de risque majeur, il est responsable d'une pression de sélection à l'origine de l'émergence des souches d'*E coli* multi résistantes, d'où la nécessité d'attendre des résultats de l'antibiogramme avant d'entamer toute antibiothérapie.

6- Détection de l'origine de l'infection :Elle peut être endogène ou exogène

Origine exogène :

Il s'agit de mettre en évidence une éventuelle contamination croisée. Il faut donc procéder à des prélèvements environnementaux (poignées de portes, matelas, draps, oreillers, dossiers, lavabos, sol, robinets, air), chez le personnel soignant (main, blouses, stylos), et sur le matériel médical.

Origine endogène :

C'est lorsque le patient s'infecte par sa propre flore.

7-La prise en charge de la source de contamination

Il s'agit de l'isolement des patients contaminés ou infectés, la décontamination du matériel mis en cause.

En situation épidémique, il faut réaliser un écouvillonnage rectal et nasal de façon systématique dès les premières 24 heures d'admission chez tout nouveau patient.

Le typage moléculaire doit être réalisé ultérieurement afin de lier l'émergence des infections à une ou plusieurs souches, qu'elles soient humaine ou environnementale et de connaître l'écologie bactérienne des services.

8-Politique de la prescription des antibiotiques :

Il s'agit de la restriction de prescription des antibiotiques à large spectre, le remplacement des C3G par une association de pénicilline avec un inhibiteur des pénicillinases.

Malheureusement dans la majorité des cas documentés dans le monde entier seul l'imipénème qui s'est montré efficace pour le traitement des infections à *E coli*, le principal inconvénient de cette mesure est l'émergence et la propagation de résistance à l'imipénème due à la prescription continue de cet antibiotique.

9-La surveillance

La surveillance constitue un élément primordial dans la lutte contre les infections nosocomiales. Elle est pilotée par des structures spécifiques

✓ Le comité de lutte contre les infections nosocomiales CLIN

Le CLIN est une instance obligatoire depuis 1989, chargée de la lutte contre les infections nosocomiales dans les Etablissements de soins. Il travaille en collaboration étroite avec l'Equipe Opérationnelle d'Hygiène (EOHH). Le CLIN est composé de plusieurs catégories de professionnels :

- Des représentants des professions médicales (médecin et pharmacien)
- Des représentants des professions paramédicales (soin ou médico-techniques)
- Des représentants des professions administratives, logistiques et techniques,
- L'EOHH,
- Des représentants des usagers (à titre consultatif).

Le rôle du CLIN :

Définir la politique de lutte contre les infections nosocomiales mise en application par l'EOHH et l'ensemble des professionnels.

✓ L'Equipe opérationnelles d'hygiène (EOH)

Pour la réalisation de ces missions, le CLIN doit être assisté par une équipe opérationnelle d'hygiène qui est composée de personnels médicaux et paramédicaux spécialisés en hygiène hospitalière : elle associe un médecin ou un pharmacien, ainsi qu'un personnel infirmier. Cette équipe peut être complétée par d'autres professionnels (techniciens bio-hygiénistes, techniciens d'études cliniques).

✓ Le laboratoire de microbiologie :

La détection des épidémies

La surveillance des bactéries endémiques multi résistantes aux antibiotiques.

Suivi de l'écologie bactérienne et de l'évolution de la résistance aux antibiotiques

Références

- [1] A. PANTEL, Multirésistances des enterobacteries au antibiotiques et modulqtion de l'influx et l'efflux membranaires chez E.coli ST131, 2016.
- [2] C.-L. .. Viidé, Bacteriologie medical 2eme édition, Paris: Elseier Masson SAS, 2007.
- [3] O. G, «Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacteries à gram négatif thèse de DOCTORAT en pharmacie,» Mali, 2007.
- [4] P. M. e. A. Denis F, Bacteriologie médicale thechniques usuelles 2ème edition, Paris: Masson, 2007.
- [5] A. J. e. al, Bacteriologie clinique 2eme edition Marketing, Paris, 2000.
- [6] D. e. Curtiss, Pathogenic diversity of escherichia coli and emergence of exotic island in the gene strem, Saint Louis USA, 1999.
- [7] H. e. Kaper, Pathogenicity islands and the evolution of microbes, 2000.
- [8] M. Levy SB, Antibacterial resistance worlwide:causes, challenges and respones, Nat Med, 2004.
- [9] P.Vuillemin, «Antibiose et symbiose».
- [10] D. JM, «Antibiotiques: intérêt, limites alternatives naturelles».
- [11] C. .. Walsh, «Antibiotics: Action, origins, Resistane,» ASM, 2003.
- [12] L. H. J. Prescott, Microbiologie 3eme edition, 2010.
- [13] C. E. Larry M.Bush, «Overview of Bacteria,» 2017.
- [14] L. e. al, «An Ecological in Balance, in Ciba foundation Symposium,» 2007.
- [15] S. KONARE, «SENSIBILité aux antibiotiques des souches d'Enterobacteries isolés en 2016 au laboratoires de Biologie Médicale et Hygiene Hospitalaire du CHU du point G,» FAculté de pharmacie, Mali, 20172018.
- [16] W. G et D, Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification, 2005.

- [17] B. Colulescu, Antimicrobiol resistance induced by genetic changer, Med life, 2008.
- [18] e. a. Manson JM, Mechanism of chromosomal transfer of Enterococcus faecalis pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits, USA: Proc Natl Acad Sci , 2010.
- [19] M. H. Hajer, «Resistance bacterienne: Mécanisme et methodes de detection au laboratoire,» Faculté de medecine et de pharmacie, Rauyom de Maroc, 2017.
- [20] D. S. e. a. Françoise Van Bambeke, Syllabus national de pharmacologie et pharmacothérapie anti infectieuse section 2, 2009.
- [21] R. C. Lozniewski A, «Résistance bacterienne aux antibiotiques,» *CCLIN Sud-Est*, 2010.
- [22] P. K, «Resistance to beta-lactamine antibiotics,» *Cell mol life sci*, n° %12200-2223, p. 61, 2004.
- [23] F. J. F. e. al, «Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics,» n° %1395-424, p. 105, 2005.
- [24] G. S. M. V. e. a. Kashyap G, «Inreasing prevalence of extended spectrum beta lactamases (ESBLs) producting E. coli,» 2013.
- [25] W. G.D, «Bacterial resistance to antibiotics, enzymatic degradation and modification,» n° %11451-1470, p. 57, 2005.
- [26] M. M. e. al, Whright Mechanism nd diversity of the Erythromycin Esterase familly of Enzymes biochemistry, 2012.
- [27] A. R. e. al, «Fluoroquinolone modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase,» *Nature Medecine*, p. 12, 2006.
- [28] A. V. A. Katriin Bocksteal, «Antimicrobial resistance in bacteria,» *Cent Eur Med*, n° %1141-155, p. 4, 2009.
- [29] L. C. .. L. W. W. Kahne D, «Glycopeptides and Lipoglycopeptide antibiotics,» *Chem Rev* , n° %1425-448, p. 105, 2005.
- [30] G. M. E. H. S.Gold, «Vancomycin- Resistant-Enterococci-Mechanisms and clinical observations,Clinical Infectious Diseases,» vol. XXXIII, p. 105, 210-219.

- [31] W. M. L. A. e. al, «Beta-lactam antibiotic resistance:a current structural prescriptive,» *Curr.Opin Microbiol*, p. 8, 2005.
- [32] S. O, «Resistance to Trimethoprim and sulfonamides,» 2001.
- [33] H. D.C, «Mechanisms of action of antimicrobiols:focus on fluoroquinolones,» *CLIN Infect Dis.*, p. 32, 2001.
- [34] W. R, «A review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agents,» 1999.
- [35] M. W. L. V. Piddock, «The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance,» *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, vol. 51, pp. 9-7, 2003.
- [36] S. Maryline, *Epidemiologie des pyélonéphrites et prostatites communautaires*, Paris: Université Paris Piderot, 2012-2013.
- [37] Nikaido, *Multidrug resistance in bacteria*, 2009.
- [38] S. B. e. a. Liam S. Redgrave, *Fluoroquinolone resistance : Mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success*, 2014.
- [39] M. K. Zahar JR, *Escherichia coli, définition, épidemiologie des résistances*, Necker: Service de microbiologie hygiène , 2002.
- [40] B. K, *Beta-lactamase of increasing clinical importance*, 1999.
- [41] e. K. M. Zahar JK, *Escherichia coli, definition , Epidemiologie des résistances*, Necker: Service de microbiologie CHU Necker Enfants malades, 2013.
- [42] N. T. e. al, *Minor extended-spectrum-B-lactamase Clinical Microbiology and infection*, 2008.
- [43] e. a. Doit C, «Enterobacteries productrices de B-lactamases à spectre étendu,» *Archives de pédiatrie*, 2007.
- [44] G. M, «Evolution of extended- spectrum-B-lactamase by mutation,» chez *Clinical microbiologie and infection*, 2008, pp. 11-32.
- [45] P. L. e. al, «Genetic support of extended- spectrum B-lactamase,» chez *Clinical microbiology and infection*, 2008, pp. 75-81.
- [46] P. A. e. al, «B-lactamases de bacilles gram négatif: le mouvement perpétuel,» chez *BiOLOGIE CLINIQUE*, 2006, pp. 37-51.

- [47] Ruppé, Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamase: the rise of CTX-M ANTIBIOTIQUES, 2010.
- [48] B. K. Queenan AM, «Carbapenemase: the versatile B-lactamase,» chez *Clin. Microb*, 2007, pp. 440-458.
- [49] L. C. e. al, «Protein and ARN synthetis independent bactericidal activity of ciprofloxacin,» chez *Med microbiol*, 1991, pp. 19-22.
- [50] J. e. al, «Prevalence of plasmid- mediated quinolone resistance,» chez *Antimicrobs agents Chmother*, 2003, pp. 47,559-562.
- [51] A. Amel, «Etude des mécanismes de résistances aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hopitaux de l'Ouest Algerien,» Université Abou Bakr Belkaid -Département de biologie, Tlemcen, 2016.
- [52] R. e. al, «Fluoroquinolone-modifying enzyme : a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase,» *Nat-Med*, 2006.
- [53] B. e. al, «site of action of two ribosomal RNA methylases responsible for resistance aminoglycosides,» chez *Mol biol*, 1987, pp. 193,661-671.
- [54] R. e. al, «Aminoglycoside modifying enzymes,» chez *Drug Resist Updat*, 2010, pp. 13,151-171.
- [55] M. e. al, «Over production of 3'aminoglycoside phosphotransferase type 1 confers resistance to tobramycin in *Escherichia coli*,» chez *Anti microb agents Chemother*, 1993, pp. 37,78-88.
- [56] H. e. al, «Interaction of aminoglycosides with the outer membranes and purified lipopolysaccharide and OmpF porin of *Escherichia coli*,» chez *Antimicrob agents Chemother*, 1991, pp. 1304-1314.
- [57] B. D. David, «Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides,» chez *Microbiol Rev*, 1987, pp. 341-350.
- [58] S. Alfandari, Antibiotherapie curative, Commission des anti infectieux, 2014.
- [59] D. e. al, Guide pratique des médicaments 30ème édition, Paris, 2011.
- [60] P. Benyoucef, Les sulfamides antibactériens, 2012.
- [61] <http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20052004/2013PPHA757/fichier/757F.pdf>

- [62] -<https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/resistance-to-tetracycline-in-escherichia-coli-isolates-from-poultry-meat-epidemiology-policy-and-perspective/9131318081705DF77B1BF145CDA102A6>
- [63] Antimicrobial agents and chemotherapy.
- [64] «Escherichia coli: définition, symptôme et traitements Top santé».
- [65] *Santé. lefigaro.fr*.
- [66] «Fiche technique Santé - sécurité: Agents pathogène - Escherichia coli, enteroinvasive- Canada.ca».
- [67] «E.coli: que faut-il savoir? www.passportsante.net».
- [68] J. e. al, «Extra intestinal pathogenic Escherichia coli "the other bad E.coli",» *Laboratory of Clinical Medecine*, p. 155, 2002.
- [69] D. S. e. S. Meriem, «Isolement, identification et études de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées dans différents services de l'hôpital Lakhdaria,» Bouira, 2019.
- [70] K. e. al, «Pathogenic Escherichia coli .Nature review's microbiology,» 2004.
- [71] Ségolène, «Caractérisation de souche d'Escherichia coli pathogène urinaires provenant de Guadeloupe,» Université Québec, 2016.
- [72] S. e. al, «Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines,» chez *Medecine et maladies infectieuses* , 2008, pp. 324-32.
- [73] T. M.R, «Etude de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées dans les urines aux fluorquinolones et aux céphalosporines de troisième génération,» chez *Medecine et maladies infectieuses* , 2010, pp. 70-73.
- [74] A. .. e. al, «Infection urinaire du nourrisson dans un hôpital matocain- fréquence étiologique et prévalence de résistance,» chez *Pathologie biologique*, 2012, p. 90.
- [75] Q. L, «Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de la réanimation (thèse)».
- [76] L. A. e. al, «Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infection urinaires à l'hôpital Moulay- Ismail,» chez *Antibiotiques* , Meknes, 2008, pp. 90-96.

- [77] B. e. al, «Antibio-résistance en Tunisie,» 2008-2010.
- [78] A. Ayad, «Etude des mecanismes de résistance aux anyibiotiques chez Escherichia coli au niveau des hopitaux de l'Ouest algerien (Thèse),» 2016-2017.
- [79] N. e. a. Moukrad, «Prévalence de la multi-résistance bacterienne aux antibiotiques des infections urinaires dans la ville de Méknés,» Maroc, 2012.
- [80] M. A. ZEGMOUT, «Les infections à bacteries mulyiresistantes en reanimation: incidence, facteurs de risque et facteurs pronostiques,» RABAT, 2008.
- [81] i. M. e. al, «Facteur de risque d'infection à Escherichia coli résistant à l'amoxicilline-acide clavulanique en réanimation,» Elsevier, France, 2003.
- [82] Z. E. e. al, «Entérobacteries multirésistantes,» chez *conférences d'actualisation*, 2005.
- [83] R. M. e. al, Antimivrobial Use and Resistance, 2002.
- [84] D. C. C. e. al, «Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit,» chez *Clin Microbiol*, 1989, p. 27.
- [85] N. S. e. al, «Impact de l'utilisation des fluoroquinolones sur l'emergence des bacteries multirésistantes,» chez *Pathologie biologique*, 2005, pp. 470-475.
- [86] G. E. e. al, «Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant,» chez *Antimicrob Chemother*, 2002, pp. 999-1005.
- [87] M. Elbouamri, «Profil actuel de résistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli uropathogenes et conséquences thérapeutiques,» *Science direct* , 2014.
- [89] S. S. e. al, «Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamase: Definition,classification and epidemiologie,» 2014.
- [90] C. J. e. al, Betalactamines EMC-Mal Infect.

Les annexes

Annexe I:

La fiche de renseignement

1- Identifications du patient :

Nom de patient :

Numéro du patient :

Age : Sexe : F : H :

Date d'admission au service :/...../.....

Motif d'admission :

Avant l'admission au service de réanimationA- Facteurs de risqueEtat physiologique débilant : Oui ☐ non ☐☐ Age☐ Pathologie métabolique☐ Atteinte cardiovasculaire☐ Atteinte neurologique☐ grossesse☐ Pathologie respiratoire☐ Pathologie immunitaire☐ Atteinte rénale☐ Dénutrition☐ Pathologie cutanée☐ ToxicomanieAutres :
.....B- Gestes invasifs : Oui ☐ Non ☐☐ Endoscopie☐ Cathéter☐ Intervention chirurgicale☐ Sondage urinaire☐ Intubation☐ Ventilation assistée☐ Trachéotomie

Autres :

C- Antibiothérapie dans les 3 mois précédents le prélèvement : Oui ☐ Non ☐

Antibiotiques	Durés	Cause

Après l'admission au service de réanimation**A- Prélèvement**

Type de prélèvements	Date	Bactéries isolées
-		
-		
-		
-		
-		

B- Les signes cliniques liés aux *Escherichia coli* multi-résistante

.....

C- Présence d'E. coli : Oui Non

D- Les traitements en cours:

	La Famille	La voie d'admission	Le dosage	La durée
Les antibiotiques				
Autres				

E- Examens complémentaires biologiques

GB

CRP:

Annexe II:

Solutions	Composition	
Urée-indole	Tryptophane	3g/L
	Urée	20g/l
	KH ₂ PO ₄	1g/l
	K ₂ HPO ₄	1g/l
	NaCl	5g/l
	Alcool à 95°	10 mL
	Rouge de phénol	2,5 mL
Violet de Gentiane	Violet de Gentiane	10 g
	Phénol	20 g
	Éthanol (90 °GL)	100 ml
	Eau distillée	1 l
Lugol	Iodure de potassium	2 g
	Iode métalloïde I ₂	1 g
	Eau q.s. ad	100 g
	q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"	
Fuchsine	Fuchsine basique	10 g
	Phénol	50 g
	Éthanol	100 mL
	Eau distillée	1 L
Mueller Hinton	Infusion de viande de bœuf	300,0 g /l
	Hydrolysate de caséine	17,5 g /l
	Amidon	1,5 g /l
	Agar	17,0 g /l
	Eau distillée (qsp)	1L
TSI : Triple SugarIron Agar	Peptones de caséine	15 g /l

	Peptones de viande	5 g /l
	Extraits de viande	3 g /l
	Peptones de levure	3 g /l
	NaCl	5 g /l
	Lactose	10 g /l
	Saccharose	10 g /l
	Glucose	1 g /l
	Citrate ammoniacal de Fer (III)	0,5 g /l
	Thiosulfate de sodium	0,5 g /l
	Rouge de phénol	0,024 g /l
	Agar	12 g /l
Gélose Hektoën	Protéose peptone	12g
	Extrait de levure	3g
	Chlorure de sodium	5g
	Thiosulfate de sodium	5g
	Sels biliaires	9g
	Citrate de fer III et d'ammonium	1,5g
	Salicine	2g
	Lactose	12g
	Saccharose	12g
	Fuschine acide	0,1g
	Bleu de bromothymol	0,065g
	Agar	14g
	Eau distillée (qsp)	1000mL
citrate de simmons	Sulfate de Mg	0,2 g/l
	Phosphate monoammoniaqué	1g/l
	Phosphate bipotassique	1g/l
	Citrate de sodium	2g/l
	NaCl	5g/l
	Bleu de bromothymol	0,08g/l
	Agar	15g/l
	pH	6,8

Annexe III: Phénotype de résistance « sauvage » des entérobactéries aux β -lactamines.

Groupe de β -lactamines	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Principaux genres d'entérobactéries rencontrées en milieu hospitalier.	<i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Citrobacte</i> <i>r koseri</i>	<i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Yersinia</i>
Aminopénicillines	S	R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	S	R
Uréidopénicillines	S	I/R	S	I/R
C1G	S	S	R	R
C3G	S	S	S	S
Carbapénèmes	S	S	S	S
Mécanismes de β -lactamase	Absence de résistance	Pénicillinase à bas niveau	Céphalosporinase à bas niveau	Pénicillinase + Céphalosporinase

Annexes IV: la galerie biochimique**Préparation de la galerie :**

-Réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée dans toutes les alvéoles afin de créer une atmosphère humide ;

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;

- Déposer la galerie sur le fond de la boîte.

Préparation de l'inoculum :

-A partir d'une culture pure, prélever 1 à 4 colonies bien isolées, N'utiliser que des cultures jeunes (18-24 heures) ;

-Réaliser une suspension bactérienne dans un tube de 5 ml d'eau distillée stérile.

Inoculation de la galerie :

-Remplir chaque test avec la suspension en respectant les consignes suivantes :

- Poser la pointe de la pipette Pasteur à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles ;
- Pour les tests soulignés remplir la cupule et ajouter de l'huile de vaseline (ADH, LDC, ODC, H₂S, URE) ;
- Pour les tests encadrés remplir le tube et la cupule (CIT, VP, GEL) ;
- Pour les tests ni encadrés ni soulignés remplir juste la cupule ;
- Fermer la boîte et incuber la galerie à 37° pendant 18 à 24h.

Lecture des résultats :

- Pour la recherche de l'indole rajouter quelques gouttes de réactif Kovacs dans la cupule IND, une couleur rose indique une réaction positive.
- Pour la recherche de la TDA rajouter quelques gouttes de chlorure de fer III dans la cupule TDA.
- Pour le test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2 dans la cupule VP. Attendre 5-10 minutes. Une couleur rouge indique une réaction positive

Identification :

- Reporter le profil numérique sur la fiche des résultats. - Se référer au logiciel d'identification pour identifier la souche.

Annexe V: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20^E

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte ajouter 1 goutte de réactif TDA		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		

VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO₂ / N₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe VI : Table de lecteur : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI chez entérobactéries

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	—	≥ 15	≥ 32	—	≤ 16
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Imipénème	10µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	—	≤ 16
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38

Résumé

Introduction : L'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. *Escherichia coli* est parmi les bactéries dont la multi-résistance est très inquiétante surtout en milieu hospitalier.

Matériel et méthodes : C'est une étude descriptive rétrospective s'étalant respectivement du mois d'Octobre 2017 jusqu'au mois de Septembre 2020 qui a eu lieu au service de réanimation polyvalente CHU Nedir Mohammed unité Belloua .

Résultats : les résultats de cette étude révèlent un taux de résistance élevée aux aminopénicillines soit 90% Tandis que , les céphalosporines de deuxième et de troisième génération gardent une bonne activité avec un taux de sensibilité de 80% pour le céfotaxime et 75% pour le céfoxitine. Toutefois, aucune résistance à l'imipénème n'a été observée dont la sensibilité est de 100%. Une fréquence élevée a été enregistrée dans la tranche d'âge des personnes âgées plus de soixante ans présentant des terrains débilissants d'immunodépression ou porteur de matériels invasifs .

Conclusion : de nos jours *E.coli* est devenu un germe opportuniste de plus en plus émergent posant ainsi un sérieux problème pour le clinicien que pour le microbiologiste, ce qui nous interpelle à redoubler de vigilance et tirer la sonnette d'alarme concernant l'application de bonnes pratiques d'hygiène hospitalière et l'usage rationnelle des antibiotiques.

Mots clé : *Escherichia coli*, réanimation, opportuniste, résistance, antibiotique

Summary

Introduction: The increase in bacterial resistance to antibiotics has become a major public health problem. *Escherichia coli* is among the bacteria whose multidrug resistance is very worrying, especially in hospitals.

Material and methods: This is a retrospective descriptive study spanning from October 2017 to September 2020, respectively, which took place in the multi-purpose intensive care unit CHU Nedir Mohammed Belloua unit.

Results: the results of this study reveal a high rate of resistance to aminopenicillins, i.e. 90% Tendis that, second and third generation cephalosporins retain good activity with a sensitivity rate of 80% for cefotaxime and 75% for cefoxitin . However, no resistance to imipenem has been observed with a sensitivity of 100%. A high frequency has been recorded in the age group of people over the age of sixty with debilitating areas of immunosuppression or carrying invasive materials.

Conclusion: nowadays *E.coli* has become an increasingly emerging opportunistic germ posing a serious problem for the clinician as for the microbiologist, which calls on us to be extra vigilant and sound the alarm bells concerning the application. good hospital hygiene practices and the rational use of antibiotics.

Key words: *Escherichia coli*, intensive care, opportunistic, resistance, antibiotic