

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU.
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES.
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE.



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences
biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Etude de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* isolé de différents
types de prélèvements(urinaires, pus, hémoculture, coprologie)
au niveau de CHU de Tizi-Ouzou.

Réalisé par

M^{elle} MOHAMMED SEGHIR Melissa & M^{elle} BOUSSOUM Lina

Le jury composé de

Président : Mr TITOUCHE	MCA	UMMTO.
Promotrice : M ^{me} MEGUENNI N	MCA	UMMTO.
Examinatrice : M ^{me} AFIF CHAOUCHE	MCA	UMMTO.

Année universitaire : 2022-2023

Liste des abréviations

Liste de figures

Liste de tableaux

Liste d'abréviations

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre 1: *Escherichia coli*

1	Généralité	4
2	Habitat	4
3	Taxonomie	5
4	Caractères bactériologiques	5
4.1	Caractères morphologiques	5
4.2	Caractères culturels	5
4.3	Caractères biochimiques	6
4.4	Caractères antigéniques	7
5	Virulence et les facteurs de virulence	8
5.1	Virulence	8
5.2	Facteurs de virulence	8
6	Pouvoir pathogène chez l'homme	9

Chapitre 2 : Les antibiotiques.

1	Définition des antibiotiques	12
2	Classification des antibiotiques	12
2.1	Classification selon l'origine	12
2.1.1	Antibiotiques naturels	12
2.1.2	Antibiotiques synthétiques	12
2.1.3	Antibiotiques semi-synthétiques	12
2.2	Classification selon l'effet antibactérien	12
2.3	La classification selon la nature chimique	13
2.3.1	Les bêta-lactamines	13
2.3.2	Aminosides	14
2.3.3	Phénicoles	15
2.3.4	Polypeptides	15
2.3.5	Tétracyclines	15
2.3.6	Macrolides	16

Liste des abréviations

2.3.7	Sulfamide-triméthoprimes.....	16
2.3.8	Quinolones et fluoroquinolones	16
2.3.9	Rifamycines.....	17
2.4	Classification selon leur spectre d'activité	17
2.5	Classification selon le site d'action :	18

Chapitre 3 : La résistance aux antibiotiques.

1	Définition	21
2	Type de résistance.....	21
2.1	Résistance naturelle (intrinsèque).....	21
2.2	Résistance acquise (extrinsèque).....	21
2.2.1	Mutation chromosomique	22
2.2.2	Acquisition des gènes.....	22
3	Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	23
3.1	Imperméabilité membranaire.....	23
3.2	Pompes à efflux	23
3.3	Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	24
3.4	Inactivation enzymatique.....	24
3.4.1	Bêta-lactamases	25

Partie expérimentale

Matériel et méthode

1	Objectif de notre étude.....	29
2	Zone et Lieu d'étude	29
3	Matériel.....	29
4	Méthodes.....	29
4.1	Prélèvement des urines (ECBU).....	29
4.1.1	Etude cyto bactériologique.....	29
4.1.2	Etude bactériologique.....	30
4.2	Prélèvement du pus.....	30
4.3	Prélèvement de coprologie	31
4.4	Hémoculture	31
4.4.1	Méthode automatique.....	31
5	Identification	32
5.1	Etude macroscopique.....	32

Liste des abréviations

5.2. Etude microscopique	32
5.1.1 Etat frais	32
5.1.2 Coloration de Gram :.....	33
5.3. Tests d'orientation	33
5.3.1. Test de l'oxydase	33
5.3.2. Test de la catalase	34
5.3.3. API20E.....	34
5.1.3 L'antibiogramme.....	35
Résultats	39
1.1 Etat frais de la culture :.....	39
L'examen au microscope optique permis d'observer des bacilles mobiles.....	39
1.2 Coloration de Gram	39
1.3 Ensemencement	39
1.4 Testes biochimiques	40
2 Répartition des isolats d' <i>E. coli</i> selon le type de prélèvement.....	41
3 La répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon les services	42
4 Prélèvements de pus.....	43
4.1 Répartition selon le sexe.....	43
4.2 Résultats de l'antibiogramme	43
5 Prélèvements d'hémoculture.....	44
5.1 Répartition selon le sexe.....	44
5.2 Résultats de l'antibiogramme	44
6 Prélèvements de coprologie	45
6.1 Répartition selon le type de patients.....	45
6.2 Résultats de l'antibiogramme	46
7 Prélèvements urinaires	46
7.1 Répartition selon le sexe.....	46
7.2 Résultats de l'antibiogramme	47
8 Souches d' <i>E. coli</i> productrices de BLSE	48
8.1 Résultats de l'antibiogramme	49
9 Phénotype de multi-résistance	49
Discussion.....	52
Conclusion.....	57
Résumé	76

Liste des abréviations

- AK : Amikacine
- AMC : Amoxicilline/Acide clavulanique
- AMP : Ampicilline
- AMX:Amoxicilline
- AN : Acide nalidaxique
- ATB : Antibiotique
- BLSE : Béta- lactamases à spectre étendu
- C : Chloramphénicol
- CF : ceftazédine
- CIP : ciprofloxacine
- CL : Colistine
- Copro : coprologie
- CTX : Céfotaxime
- CZ : Céphazoline
- DR : Dermatologie
- *E.coli* : *Escherichia coli*
- EB : Eléments Blancs
- ECBU : Examen cytbactériologique des urines
- ERT : Ertapénème
- EXT : Externe
- FOS : Fosfomycine
- FOX : céfoxitine
- GM : Gentamycine
- GN : Gélose nutritive
- GSC : gélose au sang cuit
- GSF : gélose au sang frais
- H₂S : Hydrogène Sulfuré
- HMC : hémocultures
- HT : Hématologie
- IMP : Imipénème
- INF ; Service infectieux
- MCF : Mettre de colonne de fluide
- MED INTER : Médecine Interne
- MH : Muller Hinton
- NEPHRO : Néphrologie
- NEURO : Neurologie
- PED : Service Pédiatrie
- PH : Potentiel Hydrogène
- PU CHIR : Pavillon d'urgences chirurgicales
- PU MED : Pavillon d'urgences médicales
- PU PED : Pavillon d'urgences pédiatriques
- SXT: Triméthoprime/Sulfaméthoxazole

Liste des abréviations

- TIC: Ticarciline
- URO: Urologie

Table des figures

Figure 1: Aspect d' <i>E. coli</i> sur milieu EMB .	6
Figure 2: Structures chimiques des différents groupes de Béta- Lactamines	14
Figure 3: Structure de la streptomycine.	14
Figure 4: Structures chimiques des tétracyclines et chlorotétracycline.	15
Figure 5: Structures chimiques du sulfaméthoxazole et triméthoprime.	16
Figure 6: Structure des quinolones et fluoroquinolones.	17
Figure 7: Cibles des principaux antibiotiques	18
Figure 8 : Modes de transmission du matériel génétique	23
Figure 9 : Pompe à efflux	24
Figure 10 : Récapitulation des mécanismes de résistance aux antibiotiques	26
Figure 11 : Automate VITEK® 2 compact	37
Figure 12 : Observation microscopique des cellules d' <i>E. coli</i> après coloration de Gram (G×100).	39
Figure 13 : Colonies d' <i>E. coli</i> sur différents milieux.	40
Figure 14 : Réaction positive d' <i>E. coli</i> à la catalase.	41
Figure 15 : API 20E après incubation.	41
Figure 16 : Répartition des souches d' <i>E. coli</i> isolées selon le type de prélèvement.	42
Figure 17 : Répartition selon les services.	42
Figure 18 : Répartition selon le sexe.	43
Figure 19 : Taux de résistance et de sensibilité d' <i>E. coli</i> isolée à partir des pus.	43
Figure 20 : Répartition selon le sexe.	44
Figure 21 : Taux de résistance et de sensibilité d' <i>E. coli</i> de l'hémoculture.	45
Figure 22 : Taux de résistance et de sensibilité d' <i>E. coli</i> isolées à partir de prélèvement de coprologie.	46
Figure 23: Taux de résistance et de sensibilité d' <i>E. coli</i> .	46
Figure 24 : Taux de résistance et de sensibilité d' <i>E. coli</i> isolé à partir des urines.	47
Figure 25 : Pourcentage des souches d' <i>E. coli</i> productrices de BLSE.	48
Figure 26 : Taux de résistance et de sensibilité des souches d' <i>E. coli</i> productrices de BLSE.	49

Table des tableaux

Tableau I: Classification d' <i>Escherichia coli</i>	5
Tableau II: Caractères biochimiques d' <i>E.coli</i>	7
Tableau III: Caractéristiques des pathovars d' <i>E.coli</i> responsables de syndromes diarrhéques chez l'Homme (IPEC),.....	9
Tableau IV: Phénotypes de multi-résistance des souches d' <i>E.coli</i> isolées à partir de différents prélèvements.....	50



Remerciement

Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'achever ce Modeste travail.*

Ensuite, nos profonds remerciements s'adressent à notre promoteur

Mm MEGUENNI Nacima

Pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour ses conseils, et son aide ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité, son assistance et son soutien indéfectible.

Veillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.

*Nous prenons aussi un réel plaisir à remercier chaleureusement tout **Le personnel** qui nous a guidé et patiemment conseillé pour la réalisation de la grande partie de notre travail au sein du laboratoire de microbiologie au niveau de **CHU de TIZI OUZOU**.*

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury,

Qui nous fait l'honneur d'examiner et de juger notre travail :

Mr TITOUCHE Yacine Président du jury, **Mme AFIF CHAOUCHE Thanina** examinatrice.

Enfin, nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

A decorative horizontal border with a scroll-like appearance, featuring a vertical strip on the left side and small circular details at the top corners.

Dédicaces

A l'aide d'ALLAH tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser

Ce travail que je dédie :

A Mon Très Cher Père :

Je vois en toi le courage l'amour et toutes les qualités requises chez un père ... Tu es mon soutien dans les moments difficiles, et la source intarissable de mon inspiration J'espère que tu trouveras dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

Que dieu vous garde et protège.

A Ma Très Chère Mère :

Je te remercie pour toutes les nuits dans lesquelles tu restais réveillée pour prendre Soins de moi

Merci pour ton sourire qui est la lanterne qui éclaire mon chemin, pour tous les Moments de bonheur que tu m'apportes quel que soit le terme et quel que soit L'expression, rien ne pourra exprimer mon amour telle que mon cœur le ressent, que dieu te garde et te protège.

A mes très chers frères, et à mon adorable sœur

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et surtout de santé.

A ma cousine cylvia

A mes Amies proche

SABRINE, LYDIA, CYLIA, ANIA, FAIZA, LINA.

Melissa MS...



Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents Zehor et Ismail,

Rien n'égale votre amour, patience, vos encouragements et vos prières qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours, si je suis arrivé là c'est bien grâce à vous. Qu'Allah vous donne longue vie et vous protège pour moi.

A mon grand frère Amine,

Pour son soutien et ces encouragements, le meilleur des grands frères.

A mes petits adorables frères Islem et Wassim,

De tout mon cœur je vous souhaite pleins de réussite dans vos études.

A mes grands-parents paternels et maternels,

Qu'Allah vous préserve pour nous, ainsi que toute ma famille.

A mes précieuses cousines

Letecia, Sadia, Romaisa, Lilia, Lila, Sabrina et Ines. Pour leur présence et leur amour. Peu importe où la vie nous mènera notre relation restera forte et durable.

A ma chère amie Salma Aouat

Source constante de soutien morale. Je me sens privilégiée d'avoir une amie qui croit en moi même quand je doute de mes propres capacités, reconnaissante de t'avoir.

A Louinorlin

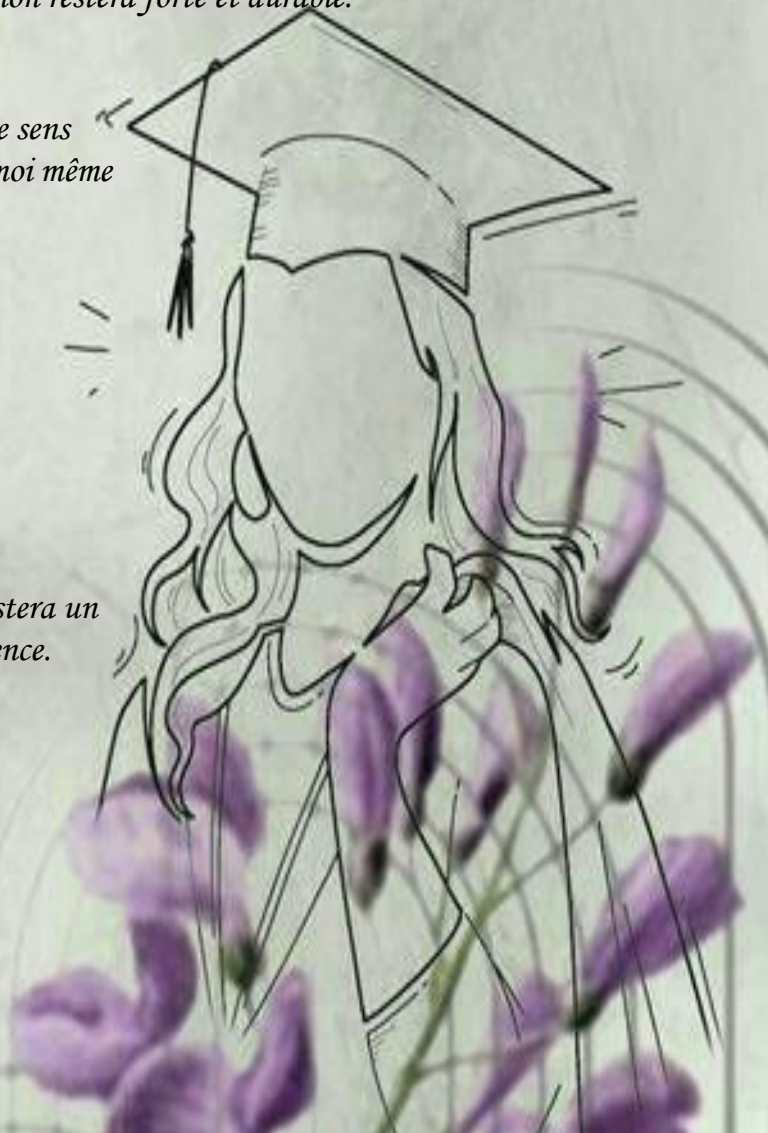
Mes confiantes et mes complices.

A toute mes copines et ma section

A mon binôme Melissa

Partenaire inestimable, notre binôme restera un souvenir précieux et une très belle expérience.

Lina...



Introduction

Introduction

Escherichia coli est la bactérie majeure du colon humain et des animaux à sang chaud elle est de ce fait 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 donc nécessaire de connaître la bactérie, de bien maîtriser ses mécanismes de résistance, ainsi de tester son comportement vis-à-vis des antibiotiques (PANTEL, 2016).

La découverte des antibiotiques au début du vingtième siècle a permis de réduire l'intensité des bactéries pathogènes et leur utilisation en clinique a réduit considérablement la mortalité des malades. Mais l'apparition des bactéries résistantes aux antibiotique sa crée une grande inquiétude sur l'échelle mondiale (GUINOISEAU, 2010).L'une des formes de résistances les plus courantes chez *E. coli* est la productrice de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) qui confère une résistance à la plupart des bêta-lactamines.

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes (GUINOISEAU, 2010).

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé devenant insensibles à tout traitement. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. (GUINOISEAU, 2010).

Dans cette optique, l'objectif de ce travail est l'étude du profil de résistance d'isolats d'*E. coli* issus du CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou.

Pour ce faire, nous avons adopté la démarche suivante :

- L'Isolement et l'identification de souches d'*E. coli* à partir des prélèvements d'urines, pus, hémoculture et des selles humain, provenant de dans différents services.
- L'Etude d l'antibiorésistance d'*E. coli* et la détection de souches productrices de BLSE (bêta-lacatamase spectre étendu).

Partie

bibliographique

Chapitre 1

Escherichia coli

1 Généralité

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois dans des fèces de nourrissons en 1885 par l'allemand Theodore Escherich et ont été nommées en hommage à ce dernier en 1919 par Castellani et Chambert (GRIMONT, 1987).

Escherichia coli est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, est une entérobactérie mobile, commensale du tube digestif, capable de fermenter le glucose et le lactose. Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où il participe à la « barrière » intestinale (BRESH *et al.*, 2007 et CRISTAIN, 2008).

La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'*E. coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore. Certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastroentérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies (CRISTIAN, 2008 et EUDIER, 2011). Il est responsable des taux élevés de morbidité et de mortalité dans le monde entier (CUNHA *et al.*, 2017).

Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières, permettant de les différencier (KING *et al.*, 2014).

2 Habitat

Le tractus digestif constitue son habitat primaire. La bactérie *E. coli* est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations supérieures à 10^6 UFC/g de contenu intestinal. Elle demeure très souvent dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif qui constitue une niche écologique favorable pour son développement de par ses conditions de température, d'humidité et de disponibilité en nutriments (CHALMERS *et al.*, 2000).

La bactérie *E. coli* est rejetée dans l'environnement à travers les fèces à une concentration d'environ 10^8 UFC/g de fèces. Elle se retrouve dans les eaux environnementales par le biais des effluents, tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux (ABRAHAM, 2018).

3 Taxonomie

Le tableau suivant représente la classification d'*E. coli* :

Tableau I : Classification d'*Escherichia coli* (citer par STEWART *et al.*, 2015).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Entrebacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

4 Caractères bactériologiques

4.1 Caractères morphologiques

E. coli est un coccobacille à Gram négatif (figure 1), 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 sporulé mais parfois capsulé. Elle se présente seules ou groupées, les plus souvent par deux très rarement en amas (JOLY et REYNAUD, 2002 ; VAISH *et al.*, 2016).

4.2 Caractères cultureux

E. coli est une aéro-anaérobie facultative, elle se cultive facilement sur les milieux ordinaires à 37 °C et à pH 7,5 (NOLAN *et al.*, 2013).

-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.

-Sur Mac Conkey : colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur.

-Sur milieu EMB (bleu de méthylène éosine) elle donne des colonies d'un violet foncé avec éclat métallique verdâtre (NOLAN *et al.*, 2013).

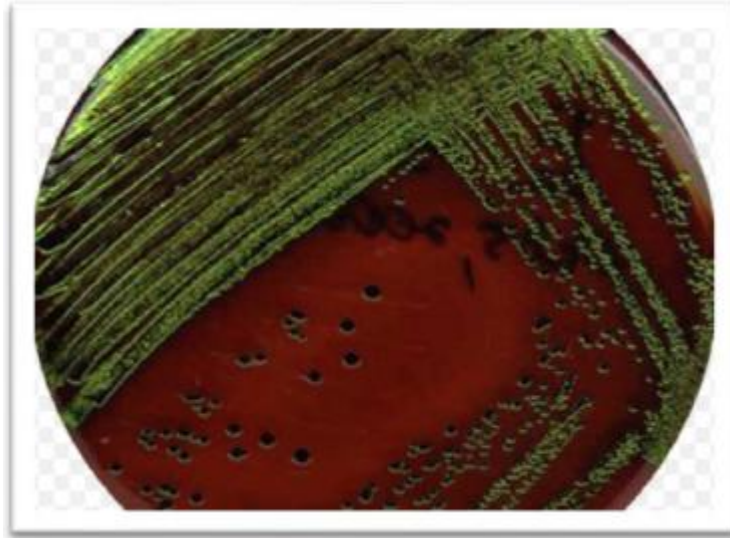


Figure 1: Aspect d'*E. coli* sur milieu EMB (ANONYME 1).

4.3 Caractères biochimiques

Selon la clef d'identification des entérobactéries de LE MINOR et VERON. (1982), *E. coli* possède un ensemble de caractères biochimiques discriminants, ce qui permet de la différencier aisément d'une population microbienne hétérogène.

E. coli a la capacité de fermenter divers sucres (glucose, le lactose, mannitol et saccharose pour certaines souches) avec production d'acide organique. Lors de la fermentation du glucose, il y a production de gaz. L'un des caractères discriminant d'*E. coli* est la production de l'indole à partir du tryptophane. Il est aéro-anaérobie facultatif, uréase négatif, tryptophane désaminase négatif, ne produit pas d'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer négative) et n'utilise pas le citrate comme source de carbone. Il réduit les nitrates en nitrites, n'a pas d'oxydase mais possède une catalase (JOLY et REYNAUD, 2002). (**Tableau II**)

Tableau II : Caractères biochimiques d'*E. coli* (d'après HAOUZI, 2013).

Caractéristiques	<i>Escherichia coli</i>
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+
VP	-
Indole	+ (généralement présent)
Citrate	-
H ₂ S	-
Uréase	-
β-galactosidase	+ (généralement présent)
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	+ (généralement présent)
Omithine décarboxylase	+ (généralement présent)
Gélatine	-

+ : caractère positive.

- : caractère négative.

4.4 Caractères antigéniques

Selon la classification antigénique attribuée aux entérobactéries, *E. coli* possède des antigènes variés associés à quatre types de structure (VAISH *et al.*, 2016 et VIDIC *et al.*, 2017).

-Les antigènes somatiques O : Ces antigènes associés aux lipopolysaccharides de la paroi, sont thermostables.

-Les antigènes flagellaires H : Sont thermolabiles, associés aux protéines des flagelles. Ils sont présents chez les souches mobiles.

-Les antigènes de surface K

Appelés aussi antigènes de capsule ou d'enveloppe, ils sont de nature polysaccharidique et ont été initialement divisés en trois types A, B et L. Ils masquent les antigènes somatiques O et empêchent le sérotypage lorsqu'ils sont présents.

L'antigène L : thermolabile, est le plus fréquent. Le chauffage à 100°C pendant une demi-heure le détruit et démasque l'antigène O le rendant accessible aux techniques de sérogroupage.

L'antigène A : est plus rare et correspond véritablement à un antigène capsulaire. Le chauffage à 100°C ne suffit pas à le détruire. Seul un autoclavage à 121°C durant une heure permet de démasquer l'antigène somatique.

L'antigène B : possède une thermolabilité intermédiaire entre les Ag L et A. Un chauffage à 100°C permet le sérogroupage mais ne supprime pas totalement l'antigène B. Un chauffage plus prolongé peut permettre de le détruire totalement (DEMBEL, 2006).

5 Virulence et les facteurs de virulence

La capacité d'*E. coli* à provoquer des infections extra-intestinales dépend largement de plusieurs facteurs de virulence nécessaires pour sa survie dans des conditions défavorables. L'identification des facteurs de virulence est importante pour la compréhension de la pathogenèse bactérienne et de leurs interactions avec l'hôte (AL SAIEDI et AL MAYAH, 2014).

5.1 Virulence

La virulence est définie comme étant l'intensité de la maladie causée par un organisme. Il est de plus en plus évident que la virulence est très complexe et dépend de l'interaction entre l'hôte et le micro-organisme (LOVE and JONES, 2008).

5.2 Facteurs de virulence

Il existe différents facteurs de pathogénicité chez *Escherichia coli* (NAUCIEL et VILDE, 2007).

- **Capsule**

Elle est de nature polysaccharidique. On en connaît 80 variétés immunologiques différentes (antigènes K). La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément. La capsule de type K1 est peu immunogène. Ce sont les *E. coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néonatales.

- **Adhésines**

De multiples adhésines ont été décrites. Elles peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales en culture. L'aspect que revêt l'interaction avec les cellules épithéliales peut donner une indication sur le type d'adhésine en cause. La plupart des adhésines se présentent sous forme de fimbriae.

- **Toxines**

Certaines souches peuvent produire une hémolysine, une entérotoxine thermolabile (LT) ou thermostable (ST).

6 Pouvoir pathogène chez l'homme

E. coli peuvent être des bactéries pathogènes et provoquent plusieurs types d'infections mais aussi des gastro-entérites graves et mortelles en cas de manque de traitement.

Ils existent deux types d'*E. coli* pathogènes :

-soit d'origine extra-intestinales (ExPEC) : urinaires, abdominales, méningées néo-natales et septicémiques.

-soit d'origine intestinales (InPEC) : responsables de gastro-entérites infantiles ou des diarrhées des voyageurs (COHEN *et al.*, 2012).

Les différentes souches sont généralement classées en fonction de leurs caractéristiques de pathogénicité, on parle alors de pathovars. Ainsi on distingue 8 pathovars : 6 pathovars InPEC et 2 pathovars ExPEC.

Les 6 pathovars InPEC sont :

- **EAEC** : Enteroaggregative *Escherichia coli*, responsables de diarrhées persistantes ;
- **DAEC** : Diffusely adherent *Escherichia coli* ; responsables de diarrhées aqueuses persistantes ;
- **ETEC** : Enterotoxinogen *Escherichia coli*, responsable de la « diarrhée des voyageurs » ou « turista » et des syndromes épidémiques dans les pays du Tiers-monde ;
- **EIEC** : Entero-invasive *Escherichia coli*, encore appelé *Escherichia coli Shigella-like*, responsable de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale ;
- **EHEC** : Entero-haémorragic *Escherichia coli*, responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxines ;
- **EPEC** : Entero-pathogen *Escherichia coli*, responsable de gastro-entérites infantiles (BAKHOUM., 2004).

Les 2 pathovars ExPEC sont :

- **MNEC** (Meningitis-associated *E. coli*) responsables de méningites
- **UPEC** (Uropathogenic *E. coli*) responsables d'infections de l'arbre urinaire (STENUTZ *et al.*, 2006 et CROXEN *et al.*, 2010). (**Tableau III**)

Tableau III : Caractéristiques des pathovars d'*E. coli* responsables de syndromes diarrhéiques chez l'Homme (IPEC), d'après (CROXEN *et al.*, 2013)

Pathovars	Signes cliniques	Procédés majeurs de pathogénicité
<i>E. coli</i> entéro-pathogène (EPEC)	Diarrhée aqueuse	Adhésion (BFP) Lésions d'attachement et effacement A/E
<i>E. coli</i> entéro-invasifs (EIEC)	Diarrhée dysentérique	Invasion cellules épithéliales (T3SS)

<i>E. coli</i> entérotoxigènes (ETEC)	Diarrhée aqueuse	Adhésion(CFA) Synthèse entérotoxines LT et ST
<i>E. coli</i> entéroaggrégatifs (EAEC)	Diarrhée persistante	Adhésion (AAF) Synthèse entéro et cytotoxines
<i>E. coli</i> adhésion diffuse (DAEC)	Diarrhée aqueuse	Adhésion(F1845)
<i>E. coli</i> adhérents invasifs (AIEC)	Diarrhée chronique	Invasion cellules épithéliales (pili de type 1, LPF)
<i>E. coli</i> enterohémorragiques (EHEC)	Diarrhée aqueuse Diarrhée hémorragique SHU/PTT	Lésions A/E Synthèse shigatoxines

Chapitre 2

Les antibiotiques

1 Définition des antibiotiques

Le terme « antibiotique » vient du grec *anti* signifiant « contre » et *bios* « la vie », fait créé en 1889 par Paul VUILLEMIN, qui proposer également le terme « antibioté » pour les microorganismes qui provoquent l'antibiose (BRYSKIER, 1999).

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie) ou par synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (BOULAHBAL, 2006).

Les antibiotiques sont caractérisés par :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité).
- Toxicité sélective (mode d'action).
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique).
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (MEHDI, 2008).

2 Classification des antibiotiques

2.1 Classification selon l'origine

Les antibiotiques ont trois origines :

2.1.1 Antibiotiques naturels

Sont produits par des micro-organismes, soit par des champignons microscopiques (ex : la pénicilline produite par *Penicillium*, la céphalosporine produite par *Céphalosporium acremonium*), soit par des bactéries (ex : streptomycine produite par *Streptomyces*) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.1.2 Antibiotiques synthétiques

Ce sont des produits obtenus entièrement par voie chimique (ex : les quinolones) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.1.3 Antibiotiques semi-synthétiques

Sont obtenus en insérant un radical chimique dans une structure moléculaire naturelle (ex : la méticilline) (CHARDON et BRUGERE, 2014).

2.2 Classification selon l'effet antibactérien

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides soit bactériostatiques.

- **Action bactériostatique** : Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens tels que les tétracyclines (MEHDI, 2008).

- **Action bactéricide** : Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse des protéines.

L'antibiotique à action bactéricide, comme par exemple les β -lactamines, peuvent agir de deux manières :

1-Ciblée, ce qui signifie qu'il ne détruit qu'un seul type de bactéries.

2-A large spectre, c'est-à-dire qu'il détruit plusieurs types de bactéries (MEHDI, 2008).

2.3 La classification selon la nature chimique

2.3.1 Les bêta-lactamines

Les β -lactamines représentant la famille majeure utilisés en milieu hospitalier vue leurs spectres d'action, leurs efficacités et leurs faibles toxicités (OWENS et SHORR., 2009). Il empêche la synthèse de la paroi bactérienne (BIMAL, 2017). La structure de base de cette famille est le noyau β -lactame qui peut se diviser en quatre sous-familles (Figure 2) :

2.3.1.1 Pénames

C'est un cycle β -lactame associé à un cycle thiazolidine et sont les premiers antibiotiques synthétisés de manière industrielle (KIRKIACHARIAN, 2010).

2.3.1.2 Céphèmes

C'est une substitution de cycle thiazolidine de la pénicilline par un cycle dihydrothiazine. Elles sont classées en différentes générations selon la date d'apparition de leurs analogues avec de nouvelles propriétés (FERNANDES et AMADOR, 2013).

2.3.1.3 Monobactames

Contrairement aux autres β -lactamines, le cycle de β -lactame est libre et n'est pas associé avec autres radicaux ; dont le spectre d'activité est très spécifique (actif contre les bactéries Gram négatif) (SYKES *et al.*, 1981).

2.3.1.4 Carbapénèmes

D'autres modifications structurelles sont possibles du noyau du β -lactame qui donne naissance à la classe d'antibiotiques carbapénèmes et ont conféré un spectre d'activité plus large, y compris une activité contre les Gram négatif producteurs de β -lactamase (BRUNTON *et al.*, 2017).

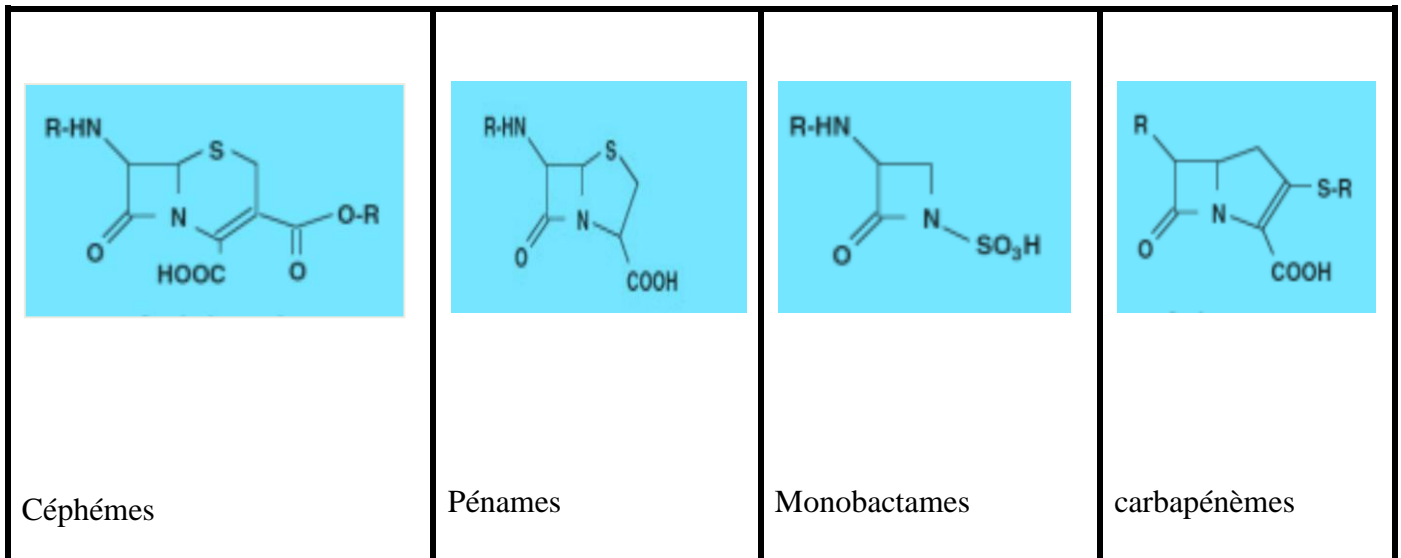


Figure 2: Structures chimiques des différents groupes de Béta- Lactamines (NORDMANN et *al.*, 2012)

2.3.2 Aminosides

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et héli-synthétiques (Figure 3). Ils sont divisés en trois classes :

- Streptamine
- 2 désoxystreptamine
- Streptidine (YALA et *al.*, 2001).

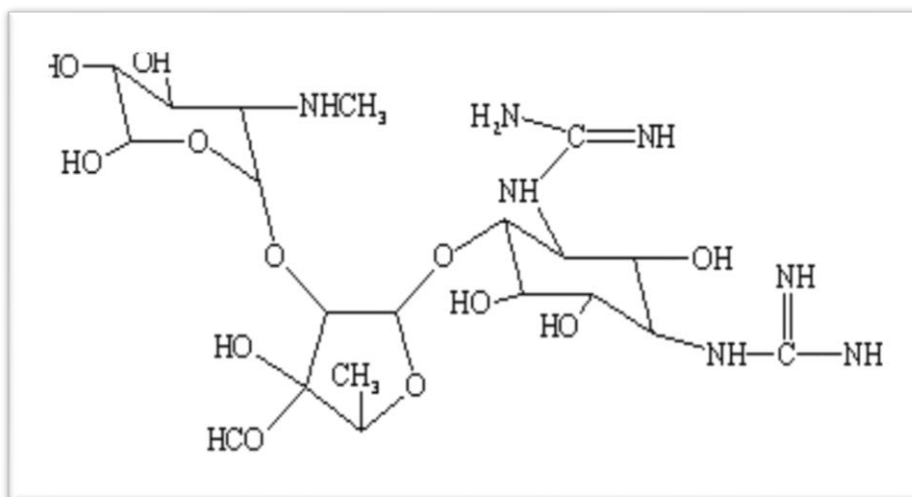


Figure 3: Structure de la streptomycine (ANONYME 02).

2.3.3 Phénicoles

2.3.3.1 Chloramphénicol

C'est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde (YALA *et al.*, 2001).

2.3.3.2 Thiamphénicol

Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire (YALA *et al.*, 2001).

2.3.4 Polypeptides

On distingue 7 groupes parmi eux :

- Peptides cycliques représentés par la Capréomycine, la Viomycine.
- Glycopeptides représentés par la Vancomycine.
- Glycolipopeptides représentés par la tecoplanine, laramoplanine.
- lipopeptides représentés par la Daptomycine (en développement clinique), la Polymyxine (actif sur bactéries GN)(YALA *et al.*, 2001).

2.3.5 Tétracyclines

Les cyclines ont une structure polycyclique complexe constituée de 4 cycles, dont un cycle aromatique et 3 autres cycles comprenant des carbones saturés (BRYSKIER, 1999) ; COURVALIN et LECLERCQ., 2012).

Les tétracyclines sont bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité. On distingue les cyclines naturelles et les cyclines semi synthétiques (figure 4) (YALA *et al.*, 2001).

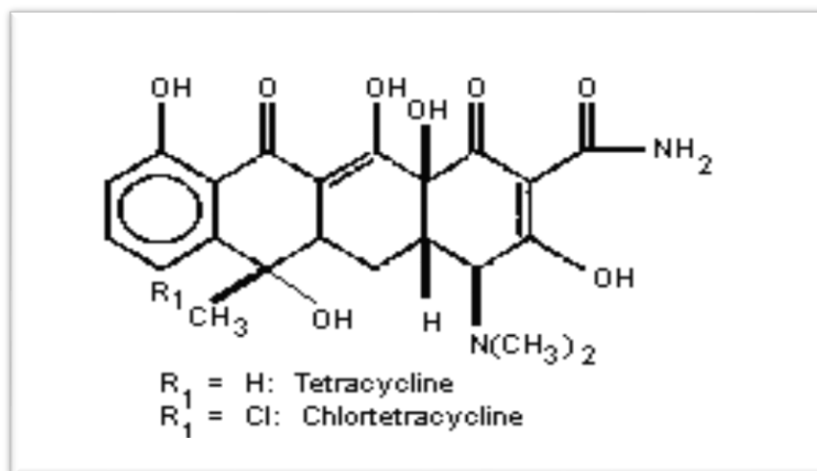


Figure 4: Structures chimiques des tétracyclines et chlorotétracycline (WOUTERS *et al.*, 1991).

2.3.6 Macrolides

Ce sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire, les macrolides possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles (YALA *et al.*, 2001).

2.3.7 Sulfamide-triméthoprimes

2.3.7.1 Sulfamides

Les sulfamides sont des dérivés de l'acide para-aminobenzène sulfonique, dans lesquels sont indispensables à l'activité antibactérienne, la présence d'une fonction amine libre et d'un soufre substituant directement le benzène (VAN BAMBEKE *et al.*, 2008).

2.3.7.2 Triméthoprime

Le triméthoprime est un diamino-pyrimidine. Il a été synthétisé en 1961 par HITCHINGS et BUSHBY. Bien qu'utilisé parfois seul, il doit être associé aux sulfamides (Figure 5) (COURVALIN et LECLERCQ, 2012).

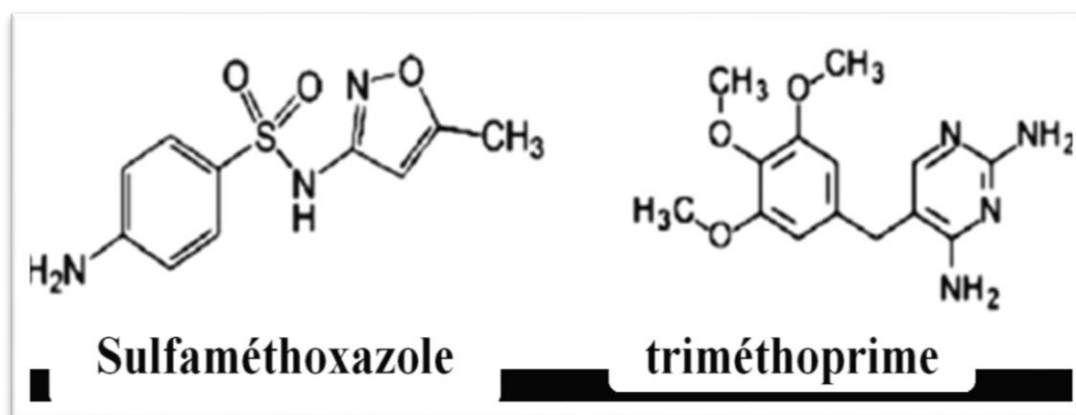


Figure 5: Structures chimiques du sulfaméthoxazole et triméthoprime (ANONYME 03)

2.3.8 Quinolones et fluoroquinolones

Plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques. Schématiquement, on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes :

- Les quinolones de première génération. Exemple : l'acide nalidixique, l'acide Oxolinique.
- Les quinolones de deuxième génération. Exemple : Ofloxacin, levofloxacin (YALA *et al.*, 2001).

Les fluoroquinolones se caractérisent par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine en position 7 (figure6) (COURVALIN et LECLERCQ,2012).

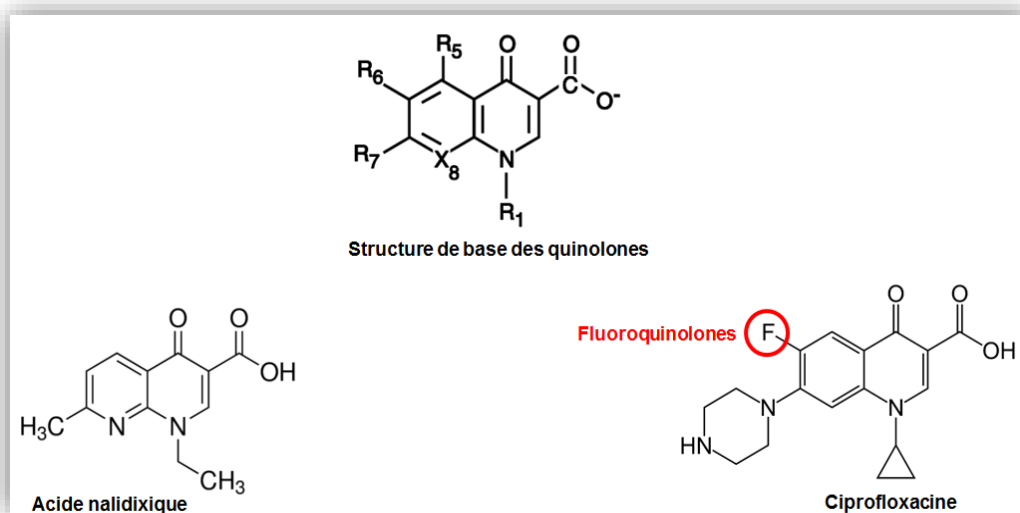


Figure 6: Structure des quinolones et fluoroquinolones (ANONYME 04).

2.3.9 Rifamycines

Sont constituées d'un macrocycle et d'un cycle aromatique.

On distingue trois antibiotiques :

- La RifamycineSV (Rifocine®) ;
- La Rifamide ;
- La Rifampicine (YALA *et al.*, 2001).

2.4 Classification selon leur spectre d'activité

Le spectre d'activité est propre à chaque antibiotique et peut varier dans le temps à la suite de l'apparition de nouvelles résistances chez les différentes espèces bactériennes (COURVALIN et LECLERCQ., 2012). Il existe deux types :

-Antibiotique à spectre large : il s'agit d'un antibiotique efficace sur un très grand nombre de type de germes .il est utilisé lorsque le germe n'est pas identifié et que la pathologie peut être due à différentes types de germes (COLLIN, 1992).

-Antibiotique à spectre étroit : il s'agit d'un antibiotique sur un nombre limité de types de germes. Cette spécificité lui permet ainsi de cibler un germe est une pathologie (COLLIN, 1992).

2.5 Classification selon le site d'action :

En effet, chaque famille des antibiotiques possède son site d'action propre sur la bactérie (Figure 7).

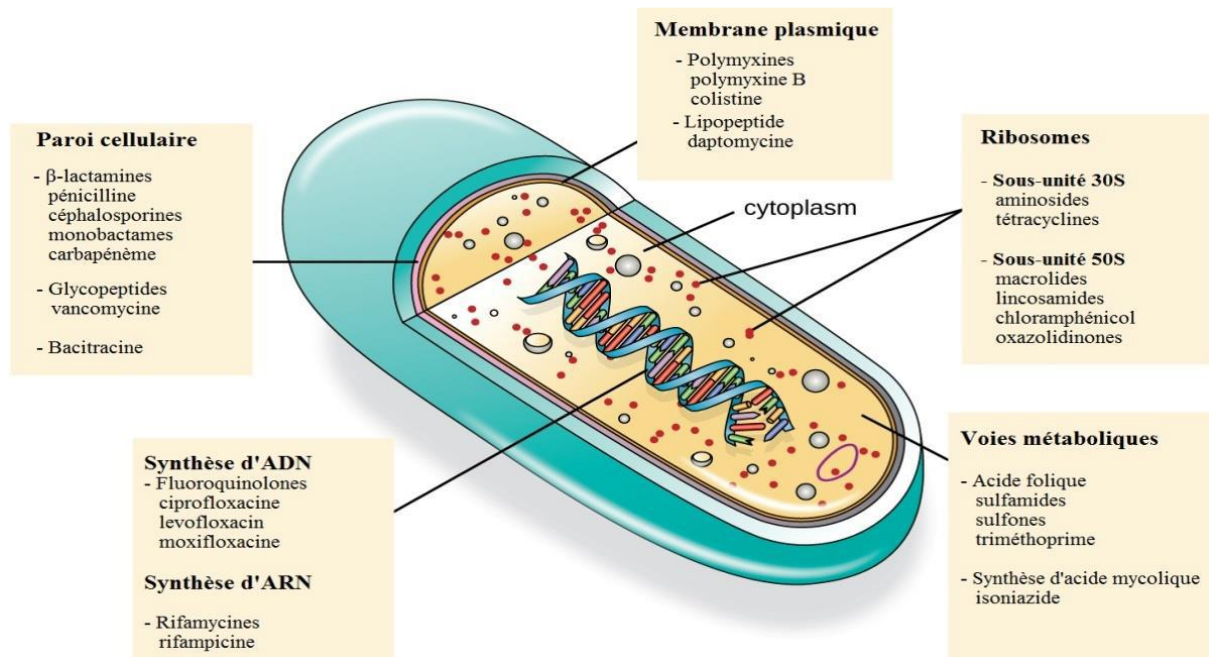


Figure 7: Cibles des principaux antibiotiques (PARKER *et al.*, 2016).

. Action Sur la paroi bactérienne

Inhibition de la synthèse de la paroi : Ces antibiotiques agissent sur des cibles extérieures de la cellule (paroi) et ne sont actifs que sur les germes qui sont en croissance. Les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action des antibiotiques et de leurs molécules.

Les antibiotiques bloquent la synthèse du peptidoglycane, la cellule s'allonge sans faire de paroi et ainsi explose sous l'effet de la pression osmotique interne. Les β -lactamines agissent suivant ce mode d'action (MEHDI, 2008).

. Action Sur la membrane cytoplasmique

Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de l'antibiotique va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie (MEHDI, 2008).

. Action Sur l'ARN des ribosomes

En inhibant la synthèse des protéines, pour constituer de bonne cible Ils agissent en se fixant sur la sous unité 30S, à concentration subthérapeutique, ils entraînent des erreurs de lecture, à dose thérapeutique, ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation. En plus en diminuant l'AMP (Adénosine MonoPhosphate) cyclique

intracellulaire, ils perturbent la barrière de perméabilité de la membrane cytoplasmique, ce qui conduit à la fuite vers l'extérieur des constituants intracellulaires, les aminosides et les phénicoles agissent selon ce mode d'action (MEHDI, 2008).

. Action Sur l'ADN bactérien

En inhibant la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques soit par :

1. inhibition de la réplication de l'ADN
2. inhibition de la transcription / ARN polymérase
3. diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (MEHDI, 2008).

. Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme intermédiaire

Par inactivation d'enzymes impliqués dans la synthèse des purines et de certains acides aminés essentiels (LAVIGNE, 2007).

Chapitre 3

La résistance aux antibiotiques.

1 Définition

La résistance aux antibiotiques est la résistance d'une bactérie à un antibiotique auquel il était jusque-là sensible. Une souche est résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (LOUISE et PISTES, 2002). Elle résulte de l'aptitude de certaines bactéries à supporter l'attaque de médicaments antimicrobiens tels que les antibiotiques, de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et accroissant le risque de propagation.

2 Type de résistance

La résistance aux antibiotiques peut se manifester de deux manières distinctes : résistance naturelle et acquise.

2.1 Résistance naturelle (intrinsèque)

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribuer à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à sa faible affinité pour l'antibiotique ou encore à son absence. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (LAZOUL et RAHI, 2014).

2.2 Résistance acquise (extrinsèque)

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes, soit des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome, soit l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes peuvent provenir du chromosome d'espèces différentes ou être véhiculés par des éléments génétiques mobiles pouvant être transférés d'une bactérie à l'autre (LOZNIIEWSKAI et RABAUD, 2010 ; SOUNA, 2011).

2.2.1 Mutation chromosomique

C'est un phénomène spontané, qui se produit au hasard lors de la multiplication bactérienne. Ces mutations touchent généralement un seul antibiotique ou une seule famille d'antibiotiques partage le même mode d'action. Cependant, dans des conditions de stress (antibiothérapie,...), les souches bactériennes peuvent subir des taux de mutation très élevés (Hypermutation). Cet état a été observé chez certaines souches pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, etc. La résistance dans ce cas est stable, permanente et transmissible sur un mode vertical (d'une bactérie mère à sa descendance) (CARLE, 2009 ; LOZNIEWSKI, 2010 ; BOUYAHYA *et al.*, 2017).

2.2.2 Acquisition des gènes

Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert d'élément génétique : la transformation, la transduction et la conjugaison (DOUBLET *et al.*, 2012).

Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de micro-organismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (STEPHANIE, 2009).

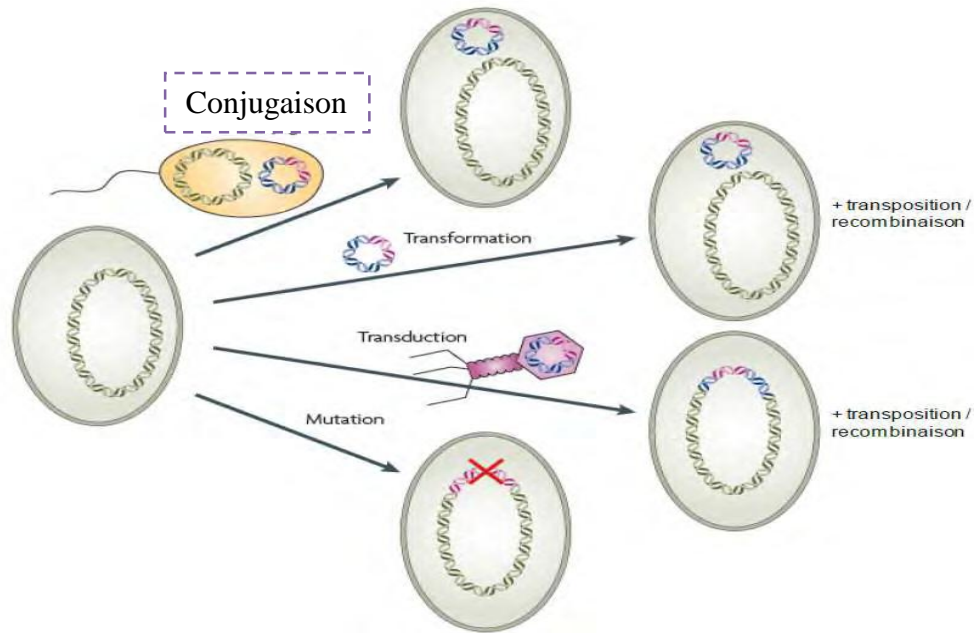


Figure 8 : Les modes de transmission du matériel génétique (ANDERSSON et HUGHES, 2010).

3 Mécanismes de résistance aux antibiotiques

3.1 Imperméabilité membranaire

La membrane externe des bactéries est traversée par des protéines transmembranaires, qui forment des canaux hydrophiles appelées porines (COURVALIN et LECLERCQ, 2012). Ce type de résistance est lié à ces porines qui ont normalement pour rôle de laisser diffuser les substances hydrophiles dont certains antibiotiques. La diminution de la perméabilité à l'antibiotique dans le cytoplasme est due à des mutations affectant la structure et le nombre des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie (ABADA et ROUIDJI, 2020).

3.2 Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie, agit en expulsant à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments (POOLE, 2001) (Figure 9). Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux selon leur spécificité de substrats et leur source d'énergie employée (LIX et NIKAIDO, 2004). Il Existe des

transporteurs spécifiques on les appelle pompes SDR (*Specific Drug Resistance*), et d'autres non spécifique on les appelle pompes MDR (*Multiple Drug Resistance*) (KUMAR et SCHWEIZER, 2005).

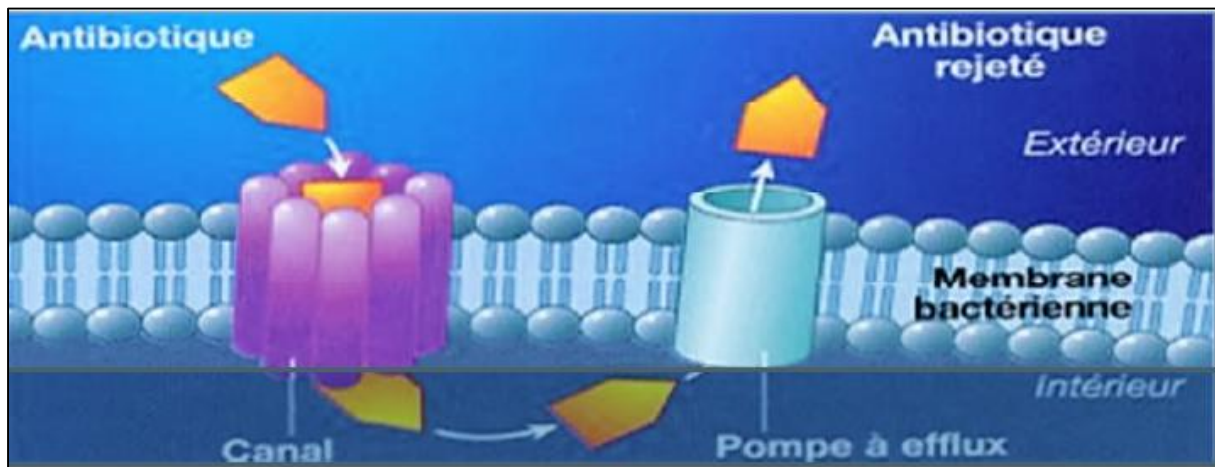


Figure 9 : Pompe à efflux (ARCHAMBAUD, 2009).

3.3 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut avoir des modifications structurales ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. C'est un mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries à Gram positif, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (GUARDABASSI et COURVALIN, 2006). Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (ALEKSHUN et LEVY, 2007). Le remplacement de la cible de l'antibiotique est un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprime) et les bêta-lactames (NIKAIDO, 2009).

3.4 Inactivation enzymatique

Un des mécanismes de résistance les plus répandus, consiste à modifier la structure de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire et par conséquent à l'inhiber. Il repose sur la production d'enzymes pouvant hydrolyser l'antibiotique (ex : les β -lactamines) ou le modifier (ex : les aminosides) (PATERSON et BONOMO, 2005).

3.4.1 Bêta-lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes, naturelles ou acquises, produites par les bactéries et qui provoquent l'hydrolyse du cycle bêta-lactame (VODOVAR *et al.*, 2012). Depuis leur découverte à la fin des années 1940 chez des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline G, plusieurs centaines de β -lactamases ont été identifiées chez diverses espèces bactériennes, pathogènes ou non, d'où la nécessité de les classer (BUSH et JACOBY, 2010). Actuellement, il existe deux différentes classifications de β -lactamases : la classification fonctionnelle de Bush et Jacoby qui est basé sur le spectre d'hydrolyse et la classification moléculaire d'Amblar qui est la plus utilisée et basée sur l'homologie des séquences en acides aminés des β -lactamases. Elle divise ces enzymes en quatre groupes (A à D) selon la structure primaire de l'enzyme. Les enzymes des classes A, C et D sont dites à sérine, alors que la classe B regroupe les métallo- β -lactamases (BUSH et JACOBY, 2010).

Ainsi, dans les années 1990 sont apparues des variantes des pénicillinases à spectre restreint (de type SHV, TEM ou OXA par exemple) capables d'inactiver les céphalosporines de troisième génération et nommées pour cette raison β -lactamases à Spectre Étendu (BLSE) (Le TURNIER, 2009).

3.4.1.1 β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE ont été décrites pour la première fois chez *Klebsiella ozaniae* en 1983 en Allemagne, puis en 1984 chez *K pneumoniae* et *E. coli* en France et en Tunisie. Ce sont des β -lactamases capables de conférer une résistance aux pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième génération, aztréonam et voir les céphalosporines de quatrième génération. En revanche, elles ne confèrent pas de résistance aux céphamycines et aux carbapénèmes. Elles sont inhibées par les inhibiteurs des β -lactamases comme l'acide clavulanique (PATERSON et BONOMO, 2005). Les BLSE sont des β -lactamases qui appartiennent en majorité à la classe A d'Amblar et 2^{be} de Bush et Jacoby (VODOVAR *et al.*, 2012).

L'ensemble des mécanismes cités sont illustrés dans la figure 11.

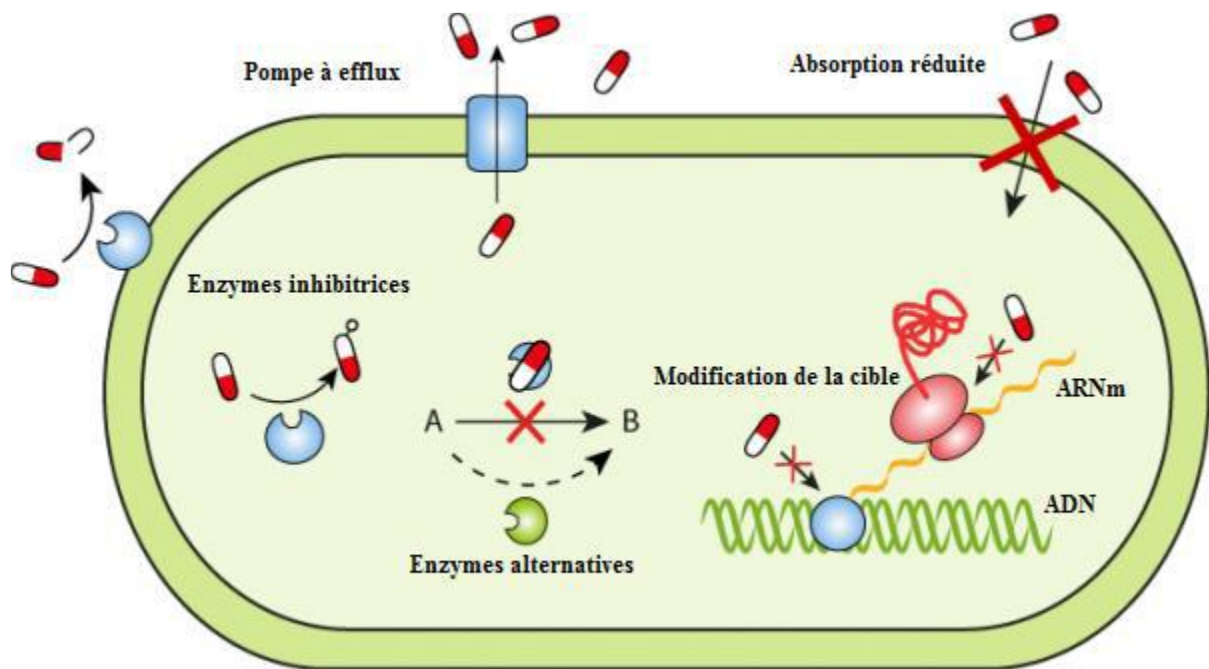


Figure 10 : Récapitulation des mécanismes de résistance aux antibiotiques

(WISTRAND-YUEN *et al.*, 2018).

Partie

Expérimentale

Matériel et méthode

1 Objectif de notre étude

Notre étude vise à révéler la présence d'*E. coli* dans plusieurs types de prélèvements prévenants de différents services de l'hôpital de CHU de Tizi Ouzou, de déterminer leurs profils de résistances aux antibiotiques et de rechercher la présence des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

2 Zone et Lieu d'étude

Notre travail pratique a été réalisée au niveau du laboratoire microbiologique de l'hôpital CHU de Tizi Ouzou, durant une période de 3 mois allant de mars jusqu'à mai 2023.

3 Matériel

Nous avons utilisé le matériel habituellement employé dans un laboratoire de microbiologie (voir annexe 1).

4 Méthodes

Le protocole suivi pour l'isolement et l'identification d'*E coli* est décrit comme suit :

4.1 Prélèvement des urines (ECBU)

Le prélèvement urinaire doit s'effectuer avec beaucoup de soin car il conditionne la qualité de l'analyse et son résultat. Habituellement, les urines sont recueillies de préférence le matin ou après avoir séjourné au moins 3 heures dans la vessie. En cas de prise d'antibiotique, il faut attendre 3 jours après l'arrêt du traitement.

Après avoir lavé les mains au savon, une toilette soigneuse est effectuée avec une lingette pour usage intime. Le pot est ouvert en posant le couvercle avec la canule vers le haut ; le premier jet est éliminé, puis les urines sont recueillies directement dans le pot.

Le prélèvement est acheminé le plus tôt possible au laboratoire. Une fois le prélèvement urinaire arrivé au laboratoire, on procède à un ensemble de manipulation.

4.1.1 Etude cyto bactériologique

Un examen qui peut fournir des informations très précieuses pour le diagnostic et le traitement d'une infection.

Technique

- Entre une cellule de mallasz et une lamelle, la chambre de la cellule est remplie par l'échantillon à l'aide d'une seringue stérile.
- L'observation est effectuée au microscope optique au grossissement $\times 40$.

Lecture

Cela permet de voir les différents types de cellules présentes dans l'échantillon (les hématies « GR », les leucocytes « GB » et les cellules épithéliales, les levures, les cristaux, la flore microbienne) et de calculer les éléments blancs par mm³ (EB/mm³).

4.1.2 Etude bactériologique

Elle correspond à la mise en culture du germe qui se fait comme suit :

- Prendre une goutte d'urine à l'aide d'une anse à boucle stérilisée.
- La goutte est ensemencé en stries serrées sur le milieu de culture (le plus idéal c'est le milieu chromogène mais on peut aussi utiliser la GN).
- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24H.

4.2 Prélèvement du pus

Le pus est recueilli la plus part de temps dans deux écouvillons (quand il n'y a pas assez de pus comme dans les plaies) dans un récipient stérile ou dans une seringue.

Technique

- Mettre du BHIB pour chaque écouvillon afin de diluer l'échantillon ;
- A partir de l'un des écouvillons, l'échantillon est déposé sur quatre milieux de culture par ordre : GSC, GSF, Hektoen et Chapman. Puis ceux-ci sont ensemencés par la technique des quatre quadrants à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ensuite une petite quantité de l'échantillon est versée dans le bouillon BHIB pour l'enrichissement.
- Le deuxième écouvillon sert à réaliser un ensemencement sur milieu Sabouraud, et un état frais (déposer quelque goutte de l'échantillon sur une lame, recouvrir par une lamelle et observation au microscope optique au $G \times 40$).
- Incubation des boîtes, Sabouraud et BHIB dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour la GSC et la GSF sont incubées en anaérobiose dans une jarre).

NB : lorsque le prélèvement est recueilli dans un récipient ou dans une seringue on suit les mêmes étapes sauf que l'on dépose l'échantillon sans diluer.

Lecture

-L'état frais permet d'observer les différents types de cellules (hématies, leucocytes, cellule épithéliale...).

-Le milieu Sabouraud est utilisé pour identifier la présence de levures.

4.3 Prélèvement de coprologie

IL consiste à mettre en culture un échantillon de selles afin de déceler la présence de germes pathogènes, l'échantillon est ramené au laboratoire dans un pot spécial.

Technique

-Prendre une noisette de selle à l'aide d'une anse du platine.

-Ensemencer sur le milieu Hecktoen par la technique quatre quadrants.

- Mettre une autre noisette de selles dans le bouillon SFB (bouillon d'enrichissement).

-Incubation à 37°C pendant 24h.

-Après 24h d'enrichissement on répète la même opération jusqu'au 3eme jour.

4.4. Hémoculture

4.4.1. Méthode automatique

Les flacons d'hémoculture sont acheminés au laboratoire, par la suite ils sont incubés directement dans le Bact-alert (un automate qui donne une signalisation positive ou négative : présence ou absence des germes) (voir l'annexe 4).

Si c'est positif la culture sur la GSC et la GSF est lancée en ensemencement par les techniques des quatre quadrants. Incubation se fait dans une jarre à 37°C pendant 24 h voir 48 h.

4.4.2. Méthode classique

- Les flacons de sang (flacons en verre) sont directement incubés à 37°C jusqu'au lendemain (voir l'annexe 8).

- Après incubation, les flacons subissent la culture de premier jour.

-Pour cela, un bout de coton iodé est passé sur le bouchon du flacon puis quelques gouttes sont prélevées avec une seringue stérile et mises sur le milieu GSC(J1).

- L'ensemencement se fait par la technique des quatre quadrants et l'incubation à 37°C pendant 24h dans l'étuve.

-Les flacons de sang sont remis dans l'étuve afin de lancer la culture pour le jour 6(J6) et le jour 10(J10).

5 Identification

Afin de déterminer les différentes caractéristiques propres à *Escherichia coli*, une série de tests d'identification a été réalisée.

5.1. Etude macroscopique

Elle se base sur l'observation macroscopique des colonies obtenues à partir de différents milieux d'isolements mettant en évidence : la taille, la forme, l'aspect et la couleur des colonies.

5.2. Etude microscopique

Elle correspond à l'observation sous microscope afin de voir la morphologie de la cellule par la réalisation d'un état frais et une coloration de Gram.

5.1.1 Etat frais

Permet d'observer des bactéries vivantes et de déterminer leur morphologie, leur mode de regroupement et leur mobilité.

Technique

-Déposer aseptiquement sur une lame une goutte d'eau physiologique stérile

-Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie, la dissocier dans la goutte d'eau puis recouvrir d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air.

-Observer à l'objectif ×40.

5.1.2 Coloration de Gram :

La coloration de gram permet d'identifier ainsi de classer les bactéries en gram positif (apparaissent en violet) et en gram négatif (apparaissent en rose).

✓ Préparation du frottis :

- Sur une lame dégraissée déposer une goutte d'eau physiologie stérile ;
- Prendre à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie ;
- Etaler la colonie en une couche mince et homogène ;
- Séchage au-dessus de la flamme du bac bunsen ;
- Fixer à la chaleur par passage 3 à 4 fois dans la flamme.

✓ Coloration de Gram :

- Recouvrir le frottis par le violet de gentiane pendant 1min ;
- Recouvrir avec du lugol (fixateur), laisser agir aussi pendant 1min ;
- Décolorer avec de l'alcool pendant 30 secondes, puis rinçage ;
- Mettre de la fuchsine, laisser agir pendant 1min ;
- Rinçage avec de l'eau ;
- Séchage ;
- Observation au microscope optique à l'immersion ($G \times 100$).

5.3. Tests d'orientation

L'aspect microscopique et les caractéristiques des colonies ne suffisent pas pour procéder à une identification précise, donc on passe à la recherche des caractéristiques biochimiques ou métaboliques et pour cela une série de tests est réalisée.

5.3.1. Test de l'oxydase

Ce test permet de détecter l'enzyme de la chaîne respiratoire « cytochrome » ; chez les bactéries oxydases+

Technique

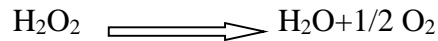
- Un disque d'oxydase est déposé sur une lame,
- A l'aide d'une pipette Pasteur une colonie bactérienne est prélevée et déposée sur le disque.

Lecture

- Une réaction positive : apparition d'une couleur violette (oxydase +).
- Une réaction négative : absence de couleur violette (oxydase -).

5.3.2. Test de la catalase

Ce test permet de détecter la présence de l'enzyme catalase ; il repose sur la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau oxygénée selon la réaction suivante :



Technique

- Sur une lame propre sèche, déposer quelques gouttes d'eau oxygénée.
- Prendre à l'aide d'une pipette Pasteur stérile une colonie et la mettre sur la lame.
- Observer immédiatement à l'œil nu.

Lecture

- Test catalase positif : se traduit par l'apparition des bulles d'air (dégagement dioxygène).
- Test catalase négatif : absences des bulles d'air ou d'effervescence.

5.3.3. API20E

La galerie API20E est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinée à l'identification des *Enterobacteriaceae*, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

Mode opératoire

- La préparation de l'inoculum s'effectue en prélevant à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies bien isolées puis introduites dans un tube d'eau physiologique stérile.
- Les fonds et couvercles d'une boîte d'incubation sont réunis et environ 5 ml d'eau distillée sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Tubes et cupules des tests encadrés sont remplis : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes et non cupules des autres tests
- une anaérobiose dans les tests soulignée est créée : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- la boîte d'incubation est refermée, codée et placée à 37°C pendant 24 h.

Lecture

Certains tests nécessitant l'addition de réactif :

- **Test VP** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 min, une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- **Test IND** : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenue en 2 min indique une réaction positive.

5.1.3 L'antibiogramme

Il existe deux techniques pour réaliser l'antibiogramme ; la technique classique qui est l'antibiogramme par diffusion des disques, et la technique moderne qui se base sur l'utilisation d'un automate appelé « VITEK ».

5.1.3.1 Antibiogramme par diffusion des disques

Technique

➤ Le milieu pour ATB

Le milieu est « Mueller-Hinton » doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. La gélose doit être séchée avant l'emploi

➤ Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 24 h sur un milieu d'isolement approprié, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'un écouvillon
- L'écouvillon est bien déchargé dans 5 à 10 ml d'eau physiologie stérile à 0,9%. La suspension est ensuite bien homogénéisée.

➤ Ensemencement

- L'écouvillon est essoré en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées.
- L'opération est répétée 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

-Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

➤ **Application des disques d'ATB**

-Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'ATB par boîtes.

-Presser chaque disque d'ATB à l'aide de pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.

➤ **Condition d'incubation**

L'incubation est à 37°C pendant 24 h.

Lecture

- Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse

- Les résultats obtenus sont interprétés, puis les bactéries sont classées dans l'une des catégories : résistant (R), sensible(S) ou intermédiaire(I).

5.1.3.2 Recherche des β -lactamase à spectre étendu(BLSE)

• **Test de synergie**

La recherche de BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'AMC à 30 mm à centre d'un disque de céphalosoprine de troisième génération (tel que le CTX).Les boîtes sont ensuite mises à incuber à 37°C pendant 24 h.

Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie entre les disques AMC et CTX, apparaissant sous forme d'un bouchon de champagne.

5.1.3.3 L'automate VITEK® 2 compact

L'automate VITEK® 2 Compact de bio-Mérieux est utilisé pour l'identification des bactéries et la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques. Ceci permet d'améliorer le délai et la qualité du rendu des résultats d'analyses bactériologiques.

Dans le cadre de notre travail, nous avons utilisé les cartes d'identification des bactéries Gram négatif (Carte GN) ainsi que les cartes servant à la réalisation des antibiogrammes (Carte AST) ; des cartes essentielles au fonctionnement de l'automate.



Figure 11 : L'automate VITEK® 2 compact

Technique

- Sur un portoir de 10 places, on met 10 tubes secs stériles.
- Verser 3ml (3000 μ l) de solution saline dans les tubes.
- Racler une colonie bien isolée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis l'ensemencer dans le tube.
- Mesurer à chaque fois la densité optique qui doit être entre [0.5-0.6] MCF on utilisant un densitomètre.
- Pipeter 145 μ l de la suspension de premier tube (tube d'identification) par une micropipette, le mettre dans un deuxième tube (tube d'antibiogramme).
- Mettre une carte GN, et une Carte AST (AST-365 pour les entérobactéries).
- Ensuite on met le portoir dans l'appareil qui selon trois étapes : remplissage (déplacer la suspension vers les cartes), soellage (couper les cartes) et Enregistrer sur PC les données du patient.

Résultats et Discussion

1 Résultats

1.1 Etat frais de la culture :

L'examen au microscope optique permis d'observer des bacilles mobiles.

1.2 Coloration de Gram

L'observation au microscope optique a mis en évidence des bacilles colorés en rose qui signifie des bactéries à Gram négatif. (Figure12).

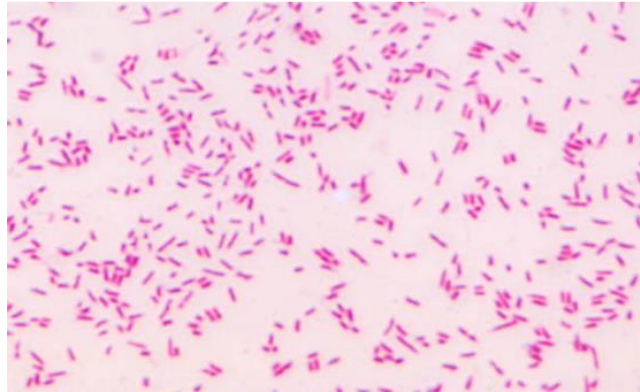


Figure 12 : Observation microscopique des cellules d'*E. coli* après coloration de Gram (G×100).

1.3 Ensemencement

Les différents aspects macroscopiques retrouvés chez les différentes souches d'*E. coli* isolées sur les différents milieux solides sont apparus comme suit :

- Sur gélose nutritive : les colonies rondes, lisses, bombées, régulières (d).
- Sur milieu chromogène : des colonies rose foncé, lisses(e).
- Sur gélose au sang cuit : les colonies blanchâtres, rondes et non bombés(b).
- Sur gélose au sang frais : les colonies blanchâtre, rondes et non bombés(c).
- Sur Hektoen : les colonies saumon sont de couleur orange(a).

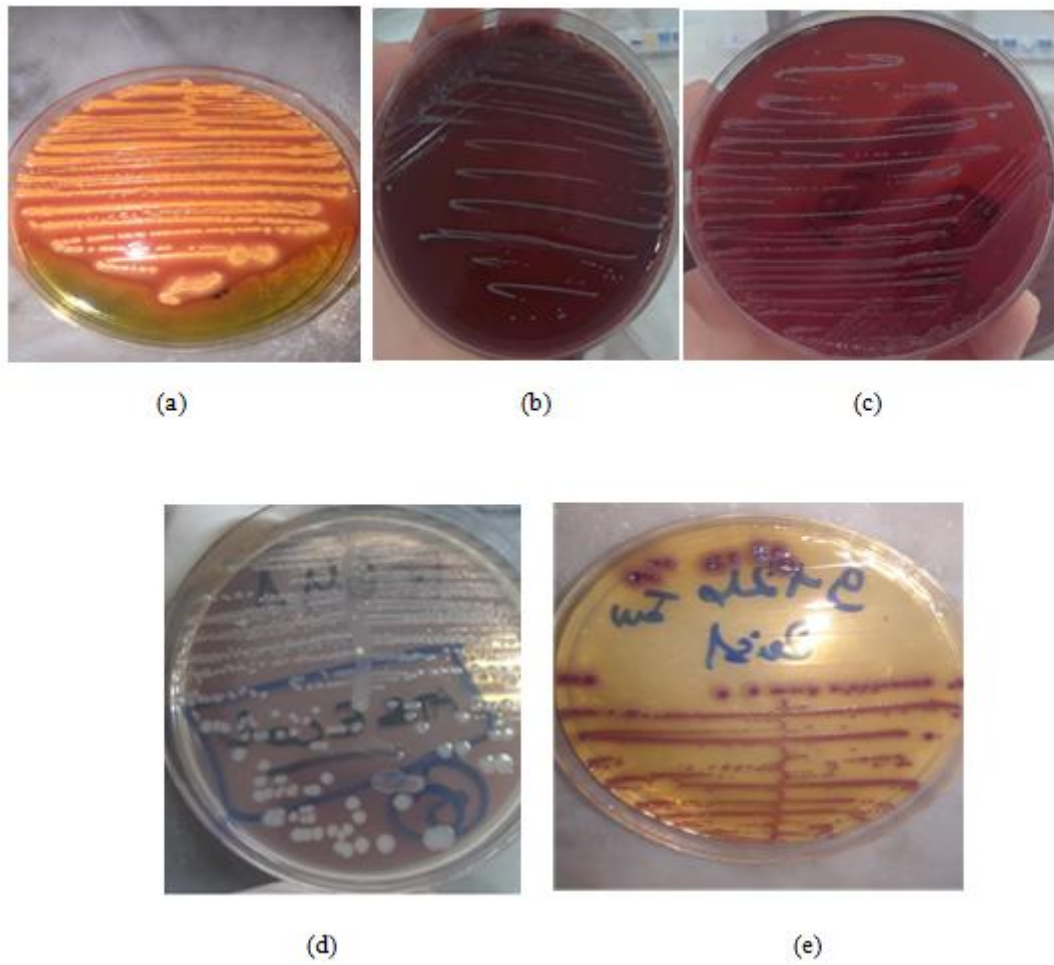


Figure 13 : Colonies d'*E. coli* sur différents milieux.

1.4 Testes biochimiques

Les caractéristiques biochimiques obtenues sont :

-Oxydase – ;

-catalase + (Figure 14).

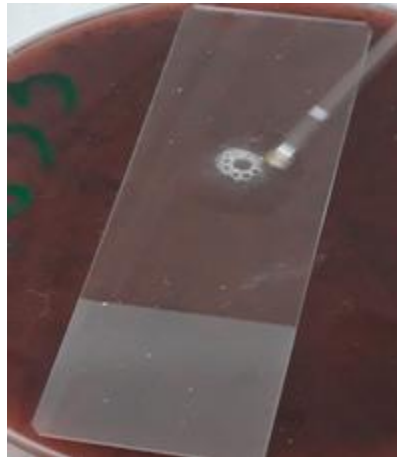


Figure 14 : Réaction positive d'*E. coli* à la catalase.

-API 20 E : Les résultats sont représentés dans la figure suivant.

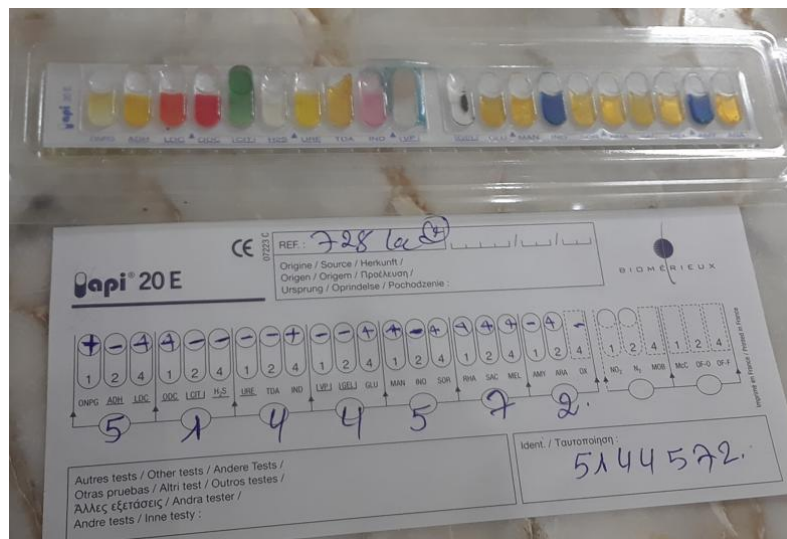


Figure 15 : API 20E après incubation.

2 Répartition des isolats d'*E. coli* selon le type de prélèvement

La répartition des 227 isolats d'*E. coli* selon la nature de prélèvement (prélèvement d'urine, de pus, d'hémoculture, et de coprologie a révélé la prédominance des souches au niveau des urines (71%) suivi par le pus (19%), hémoculture (9%) et en dernier le prélèvement de coprologie (1 %). Les résultats présentés ci-dessous (Figure 16).

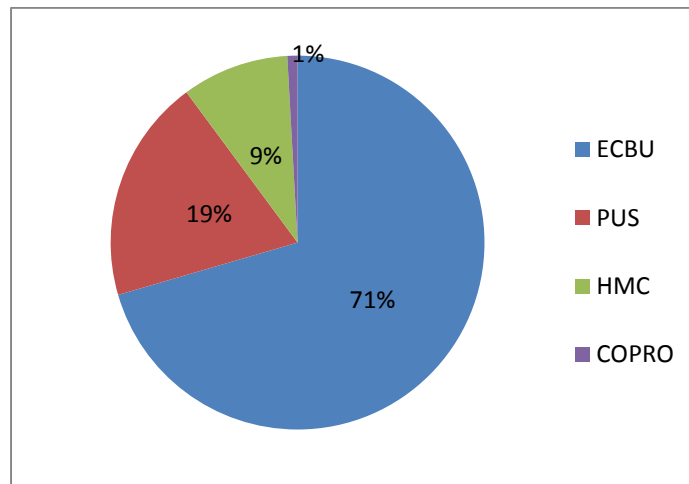


Figure 16 : Répartition des souches d'*E. coli* isolées le type de prélèvement.

3 La répartition des souches d'*E. coli* isolées selon les services

Les 227 souches d'*E. coli* sont réparties sur différents services : Pu de Médecine, Pu Chirurgicale, Pu pédiatrique, urologie, hématologie, thrombolyse, infectieux, pédiatrie, médecine interne, néphrologie, neurologie, dermatologie, néonatalogie pédiatrie et externe.

On constate que les services les plus concernés par la détection d'*E. coli* sont : Pu Ped (28%), Pu Med (21%) et 15% pour Pu Chir et EXT, et pour le reste des services les pourcentages sont entre 1% à 6%. (Figure 17)

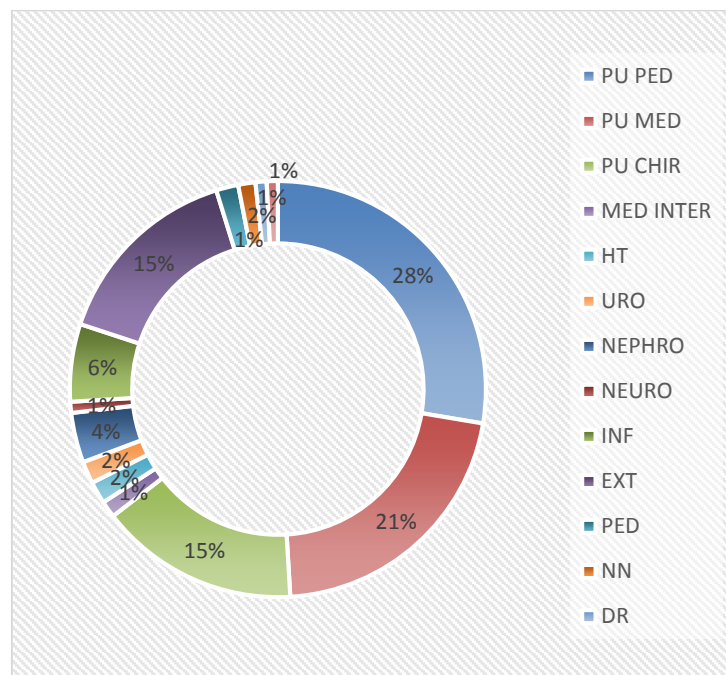


Figure 17 : Répartition selon les services.

4 Prélèvements de pus

4.1 Répartition selon le sexe

Sur l'ensemble de souches étudiées, 64% ont été isolées chez les hommes contre 36% chez les femmes (Figure 18).

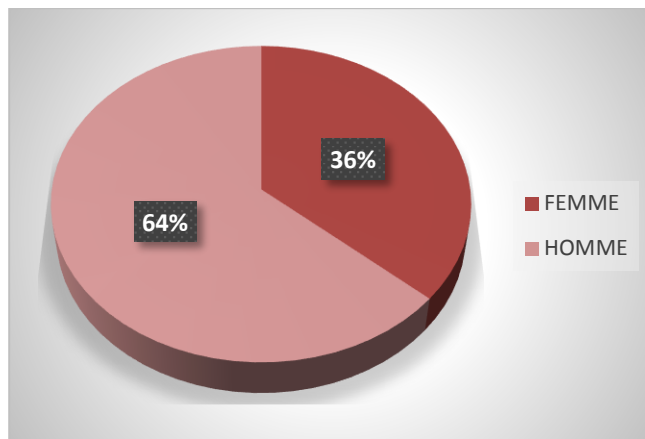


Figure 18 : Répartition selon le sexe.

4.2 Résultats de l'antibiogramme

Les antibiogrammes réalisés sur les 44 souches d'*E. coli* isolées, ont permis d'obtenir les résultats présentés dans l'histogramme ci-dessous.

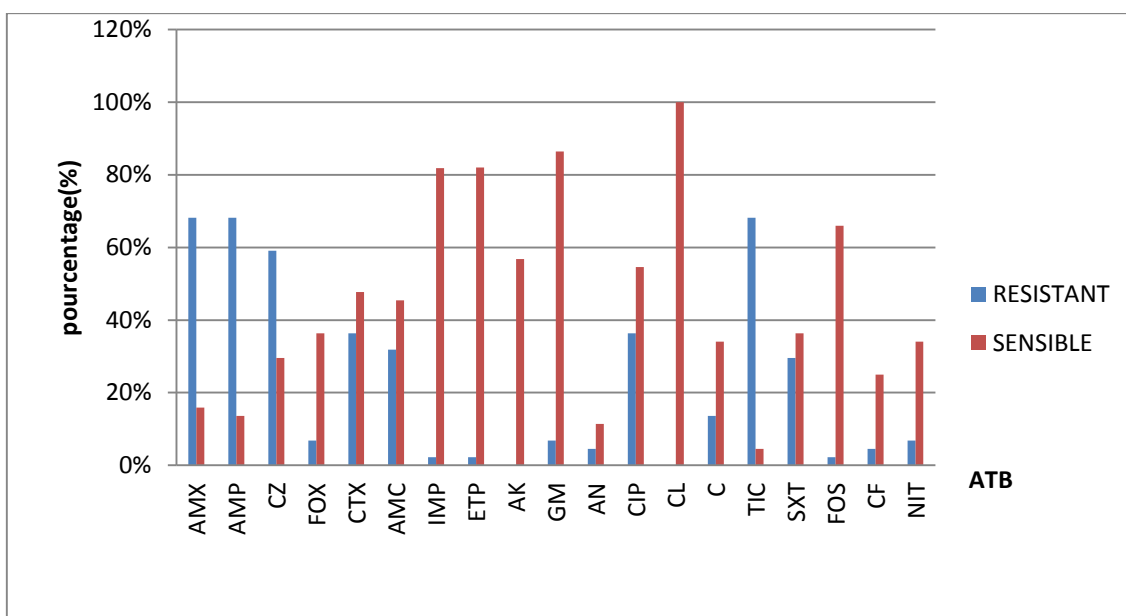


Figure 19 : Taux de résistance et de sensibilité d'*E. coli* isolée à partir des pus.

Les 44 souches représentent un taux de résistance très élevé de 68% à l'amoxicilline, ampicilline et ticarcilline, suivi de la céfazoline (59%), céfotaxime et ciprofloxacine (36%), amoxicilline-acideclavulanique (32%) , trimethoprime-sulfamethoxazole (30%) . De faibles taux de résistance ont été observés vis-à-vis de l'imipenème, ertapénème, gentamicine, acide nalidixique, fosfomycine, céftazidime, nitrofurantoïne et chloramphénicol [2%-14%] de même qu'aucune des souches ne sont résistantes à la colistine et l'amikacine.

Concernant la sensibilité, les souches isolées sont totalement sensibles à la colistine (100%), suivi de la gentamycine, imipenème, ertapénème et fosfomycine (86%).

5 Prélèvements d'hémoculture

5.1 Répartition selon le sexe

Sur l'ensemble des souches étudiés, 62% ont été isolées chez les femmes alors que 38% chez les hommes (Figure 20).

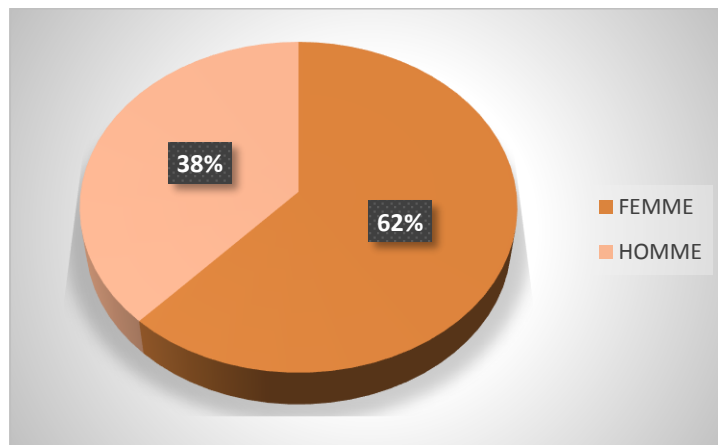


Figure 20 : Répartition selon le sexe.

5.2 Résultats de l'antibiogramme

L'étude de comportement de 21 souches d'*E coli* isolées à partir des hémocultures vis-à-vis des antibiotiques a permis d'obtenir les résultats ci-dessous (Figure 21).

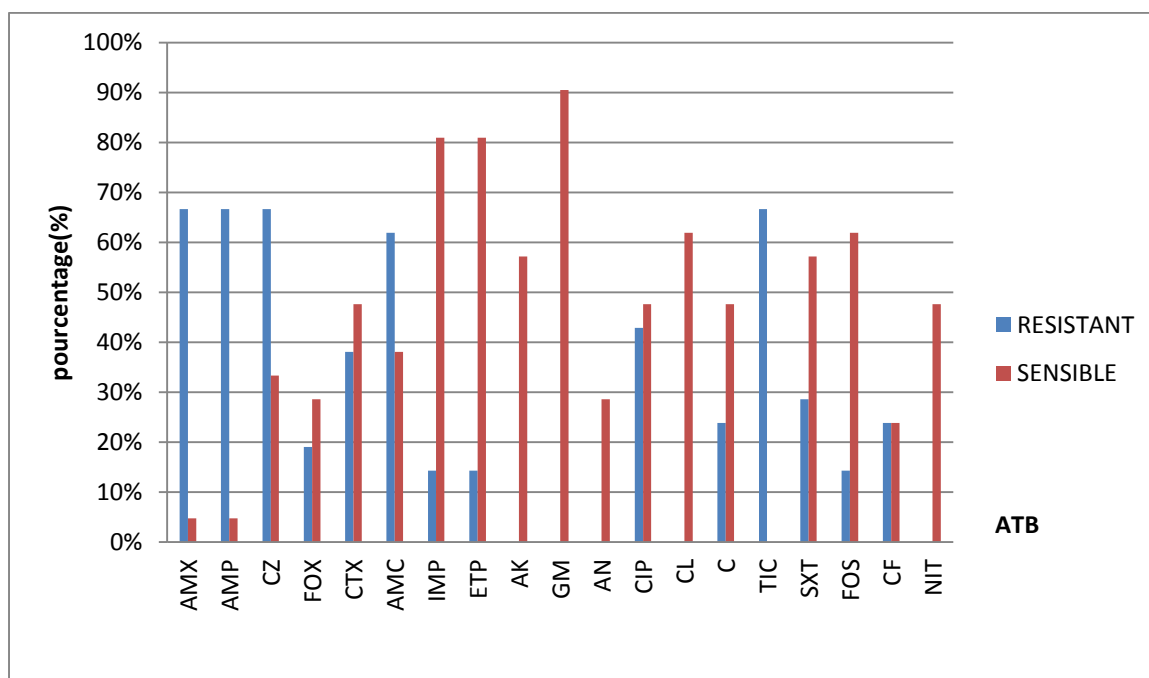


Figure 21 : Taux de résistance et de sensibilité d'*E. coli* de l'hémoculture.

Le taux de résistance est très élevé pour amoxicilline, ampicilline, céfazoline et ticarcilline (67%), suivi de l'amoxicilline-acide clavulanique 62%, ciprofloxacine 43%, céfotaxime 38%, et pour triméthoprime-sulfaméthoxazole et chloramphénicol est entre 24%-29%, ainsi qu'une faible résistance à la fosfomycine, ertapénème, imipénème et céfoxitine [14%-19%].

Pour la sensibilité, un taux très élevé à la gentamicine 90% suivi de la colistine, ertapénème et imipénème (81%), fosfomycine (62%), amikacine et triméthoprime - sulfaméthoxazole (57%) et pour le chloramphénicol, ciprofloxacine, nitrofurantoïne et céfotaxime (48%), amoxicilline-acide clavulanique (38%) et céfazoline (33%), ainsi que des taux moins élevés à la céftazidime, acide nalidixique et céfixitine entre 24% et 29%. Un faible taux a été observé à l'amoxicilline et ampicilline (5%), et aucune souches n'est résistante à la ticarcilline.

6 Prélèvements de coprologie

L'étude de comportement de 2 souches d'*E. coli* isolées à partir de prélèvement de coprologie, a permis d'obtenir les résultats ci-dessous.

6.1 Répartition selon le type de patients

Sur l'ensemble des souches étudiés la plupart étaient isolés chez les nourrissons et les enfants de 1 à 6 ans.

6.2 Résultats de l'antibiogramme

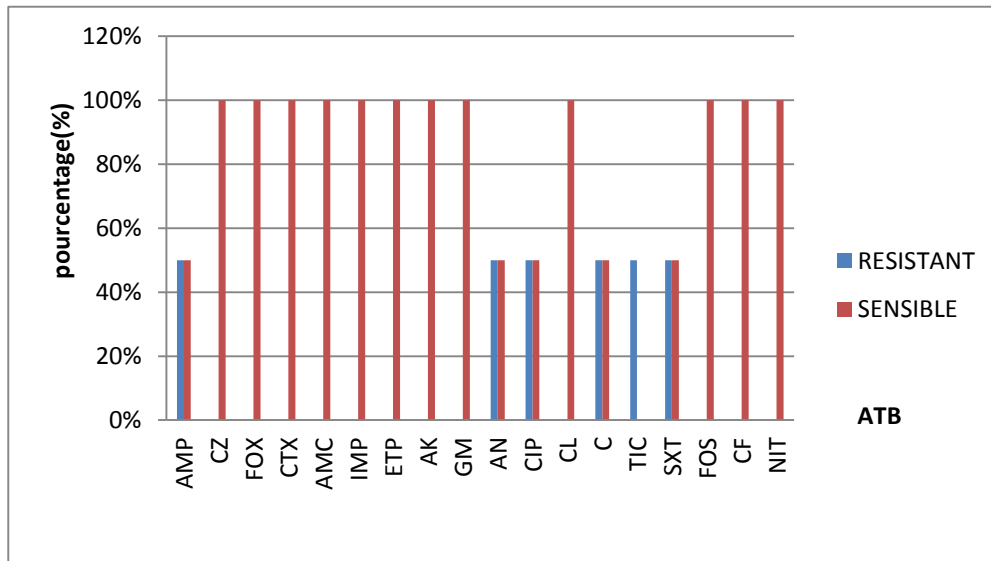


Figure 22 : Taux de résistance et de sensibilité d'*E. coli* isolées à partir de la coprologie.

Le comportement de 2 souches d'*E. coli* isolés montre une sensibilité totale à la céfotaxime, amoxicilline-acide clavulanique, céfazoline, imipénème, értapénème, amikacine, gentamicine, colistine, fosfomycine, céftazidime et nitrofurantoïne. A l'opposé 50% sont résistantes à l'ampicilline, acide nalidaxique, ciprofloxacine, chloramphénicol, ticarcilline et triméthoprime-sulfaméthoxazole.

7 Prélèvements urinaires

7.1 Répartition selon le sexe

Sur les 160 souches isolées, 69% sont repérés chez les femmes alors que 31% chez les hommes (Figure 23).

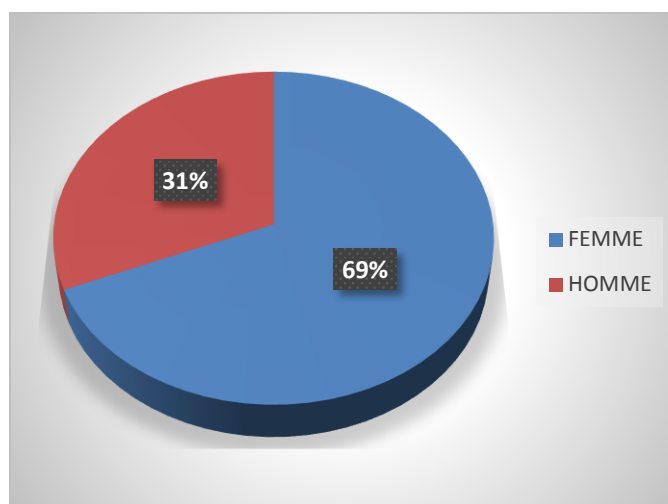


Figure 23 : Répartition selon le sexe.

7.2 Résultats de l'antibiogramme

L'étude de comportement de 160 souches d'*E. coli* isolées à partir des urines, a permis d'obtenir les résultats présentés ci-dessous.

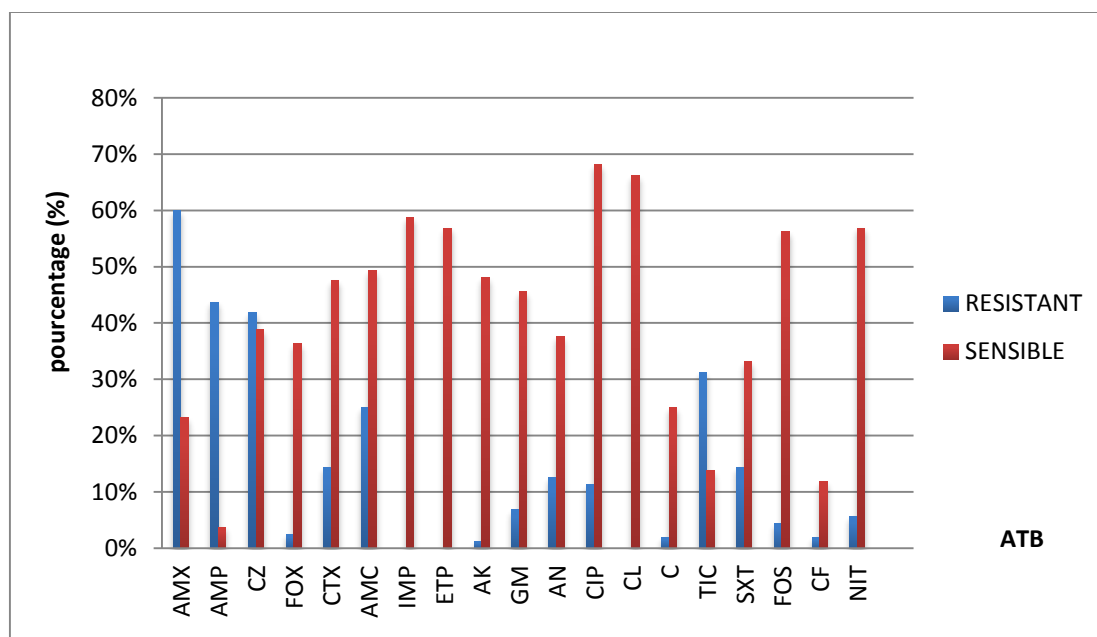


Figure 24 : Taux de résistance et de sensibilité d'*E. coli* isolé à partir des urines.

On constate que les taux de sensibilités les plus élevés ont été enregistrés chez la ciprofloxacine (68%) suivi de la colistine (66%), imipenème (59%), ertapinème et nitrofurantoïne (57%) et la fosfomycine (56%), alors que pour l'amikacine, céfotaxime, amoxicilline-acide clavulanique, gentamicine, céfazoline, acide nalidaxique, céfoxitine, triméthoprime-sulfaméthoxazole, chloramphénicol et l'amoxicilline les taux de sensibilités sont

moins élevés situés entre 23% et 49% alors que vis à vis de l'ampicilline, céftazidime et ticarcilline les souches présentent une faible sensibilité [4%-14%].

Cependant on remarque une forte résistance à l'amoxicilline, ampicilline, céfazoline et ticarcilline (31%-60%), suivi de l'amoxicilline-acide clavulanique, triméthoprime-sulfaméthoxazole, céfotaxime, acide nalidaxique et la ciprofloxacine avec des taux moins élevés (11%-25%). Quant à la céfoxitine, amikacine, chloramphénicol, céftazidime, nitrofuranoïne, gentamicine, fosfomycine ceux-ci présentent une très faible résistance (1%-6%), de même que l'imipénème, ertapinéme et la colistine sont toutes actives.

8 Souches d'*E. coli* productrices de BLSE

Dans les 227 souches d'*E. coli* isolées, seulement 7% sont productrices de BLSE contre 93% qui sont restées non productrices (voir l'annexe 7).

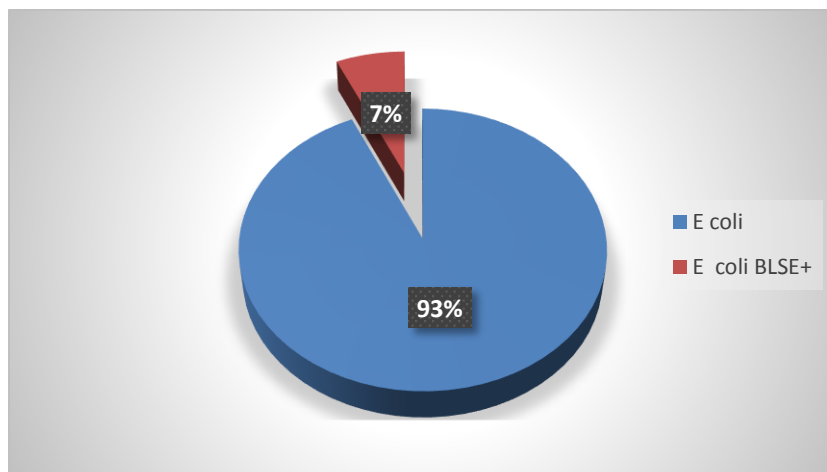


Figure 25 : Pourcentage des souches d'*E. coli* productrices de BLSE.

8.1 Résultats de l'antibiogramme

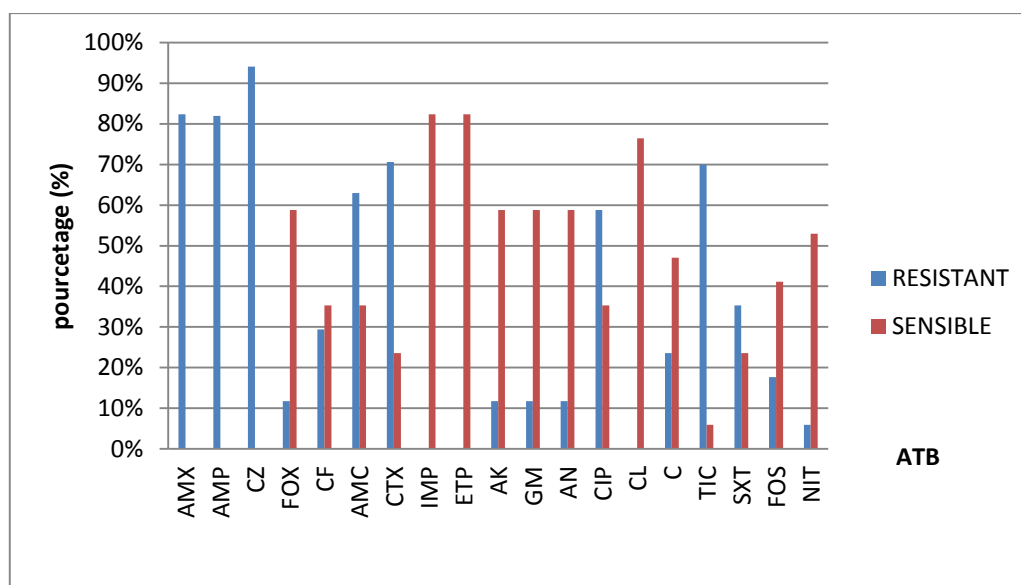


Figure 26 : Taux de résistance et de sensibilité des souches d'*E. coli* productrices de BLSE.

Le comportement des souches d'*E. coli* productrices de BLSE vis-à-vis les ATB testés présentent une forte résistance à la famille des Bêta-lactamines (ampicilline, céfazoline, amoxicilline, céfotaxime, amoxicilline-acide clavulanique et ticarcilline) avec [70%-94%] suivit de triméthoprime-sulfaméthoxazole (35%), Céfotaxime (29%) et chloramphénicol (24%) et pour la fosfomycine, amikacine, gentamicine, acide nalidixique, céfoxitine et la nitrofloxacine les pourcentages de résistances sont situés entre 6%-18%, alors que l'ertapinéme, colistine et imipénème aucune souche n'a présenté une résistance.

Concernant la sensibilité, on observe des pourcentages élevés entre 53%-82% pour l'imipénème, ertapénème, colistine, amikacine, gentamicine, acide nalidixique, céfoxitine et nitrofloxacine. Pour le reste des antibiotiques le taux de sensibilité est moins élevé.

9 Phénotype de multi-résistance

Afin de déterminer les phénotypes de multi-résistance des souches d'*E. coli* isolées des différents prélèvements étudiés. Nous avons déterminé d'abord le profil de résistance de chaque souche isolée. Les résultats des phénotypes de multi-résistance sont illustrés dans le tableau IV.

Sur 227 souches d'*E. coli* testées, 43,61% de souches sont multi-résistantes (jusqu'à 9 molécules), incluant 40,6% de souches isolées dans les urines, 52,27% dans les pus, 47,61% dans l'hémoculture et 50% dans la coprologie.

Dans les différents prélèvements, des phénotypes de multi-résistance communs ont été marquées dont les plus dominants sont les suivants :

- AMX -CZ -TIC : 11 souches multi-résistance (9 dans ECBU et 2 dans les pus).
- AMX -CZ -AMC et -AMX -AMC -CZ -TIC : 6 souches pour chaque phénotype.
- AMX -AMC -CZ -CTX : 5 souches.
- AMX -CZ -CIP -SXT, AMX -CZ -CTX -TIC et AMX -CZ -CTX -CIP -SXT : 3 souches pour chaque phénotype.
- AMX -AMP -AMC -CZ -TIC : 2 souches d'*E. coli*.

Tableau IV : Phénotypes de multi-résistance des souches d'*E.coli* isolées chez les différents prélèvements.

Phénotypes de multi-résistance	AT B	Nombre de souches d' <i>E coli</i>			
		ECBU	PUS	HMC	COPR O
01 - AMC - CZ - AMC	3	04	01	01	00
02 - AMX - CZ - CTX	3	00	02	00	00
03 - AMX - CZ - FOX	3	01	00	00	00
04 - AMX - CZ - SXT	3	01	00	00	00
05 - AMX- CZ- GM	3	02	00	00	00
06 - AMX- CZ- TIC	3	09	02	00	00
07 - AMX -AMC -SXT	3	01	00	01	00
08 - AMX -AMC -CIP	3	00	00	01	00
09 - AMX -CIP- SXT	3	01	00	00	00
10 - AMX - CIP -AN	3	01	00	00	00
11 - CZ -AMP -AMC	3	01	00	00	00
12- CZ- AMP- TIC	3	02	00	00	00
13 - AMX -AMC- CZ- CTX	4	04	01	00	00
14 AMX -AMC- CZ - TIC	4	05	01	00	00
15 AMX -AMC -CZ -FOS	4	01	00	00	00
16AMX -AMC -CZ- SXT	4	01	00	00	00
17 AMX -AMC -TIC- CIP	4	01	00	00	00
18 AMC - CZ -CTX- TIC	4	02	01	00	00
19 AMX -CZ- TIC- AN	4	01	00	00	00
20 AMX- CZ -AN- SXT	4	01	00	00	00
21 AMX- CZ -CIP -SXT	4	01	02	00	00
22 AMX -CZ- CTX- AN	4	02	00	00	00
23 AMX -CZ- CTX -CIP	4	00	01	00	00
24 AMX -CZ- TIC -SXT	4	01	00	00	00
25 AMX- CZ -SXT- C	4	01	00	00	00
26 AMX -CTX -TIC -CIP	4	01	00	00	00

27 AMX -TIC -SXT- AN	4	01	00	00	00
28 AMP -SXT- CIP -C	4	00	00	00	01
29 AMP -CZ -CTX -CIP	4	00	01	00	00
30 CZ -GM -CIP -SXT	4	01	00	00	00
31- AMX -AMP -AMC -CZ -TIC	5	01	01	00	00
32 - AMX -AMP -AMC -CZ -C	5	00	01	00	00
33 - AMX -AMP -AMC -TIC -CIP	5	01	00	00	00
34 - AMX -AMP CZ -CTX -SXT	5	01	00	00	00
35-AMX -AMC -CZ -CTX- TIC	5	01	00	00	00
36-AMX- AMC- CZ -TIC- GM	5	01	00	00	00
37-AMX -AMC -CZ -TIC- CIP	5	01	00	00	00
38 - AMP -AMC -CZ -CIP -SXT	5	00	01	00	00
39 - AMP -AMC- CZ- CF -GM	5	01	00	00	00
40 - AMP -CZ- CF- CTX- GM	5	01	00	00	00
41 - AMX- CZ- CF- CTX- SXT	5	00	00	01	00
42- AMX -CZ- CTX- CIP -SXT	5	00	02	01	00
43- AMX -CZ -CTX-GM -CIP	5	00	01	00	00
44 - AMP- AMC - CZ- CF- FOX- CTX	6	00	01	00	00
45 - AMX-AMC- CZ -CTX - SXT- NIT	6	01	00	00	00
46- AMX -AMC- CZ- CTX -CIP -FOS	6	01	00	00	00
47- AMX -AMC- CZ - CTX -CIP- SXT	6	00	01	00	00
48 - AMX -AMC- CZ -CTX -GM -SXT	6	01	00	00	00
49 - AMX -AMC- CZ - AN -GM -SXT	6	01	00	00	00
50 - AMX -AMC- CZ -CTX -TIC -AN	6	01	00	00	00
51 - AMX -CZ -FOX- TIC -AN -CIP	6	01	00	00	00
52 - AMX -CTX -AN- GM- CIP -SXT	6	01	00	00	00
53 - AMX -CZ -CTX -AN- GM -CIP -SXT	7	01	00	00	00
54- AMX -AMC- CZ -CTX -IMP ETP CIP	7	00	00	01	00
55- AMX -AMP -AMC- CZ -CTX- CIP - SXT	7	00	01	00	00
56 -AMC- CZ- CTX -TIC- GM- CIP- SXT	7	00	01	00	00
57 - CZ - TIC- AN -GM -CIP- FOS- NIT	7	01	00	00	00
58- AMX -AMC- CZ - CF -CTX- TIC -CIP -NIT	8	01	00	00	00
59 - AMX -AMC- CZ - FOX- CTX -TIC - AN CIP	8	00	01	00	00
60- AMX -AMC- CZ -FOX- CTX- IMP - ETP CIP	8	00	00	01	00
61 - AMX -AMP- CZ -CF - CTX- CIP -C - FOS	8	00	00	01	00
62- AMP- AMC- CZ -FOX -CTX -CIP -C - SXT	8	00	00	01	00
63 -AMP- AMC- CZ - CF- FOX - CTX- CIP - C- SXT	9	00	00	01	00
Nombre totale de souches multi-résistantes		65 (40,6%)	23 (52,27%)	10 (47,61%)	01 (50%)
		99(43,61%)			

Discussion

L'utilisation des Antibiotiques est le facteur de risque le plus important dans le développement de la résistance. La montée en puissance des bactéries résistantes à l'antibiotique, notamment chez *E. coli* objet de notre étude, constitue un problème de santé publique dans le monde entier.

Le pourcentage d'isolement le plus élevé de ce germe est observé dans les prélèvements urinaires (71 %) ; cela confirme que *E coli* est surtout une bactérie responsable d'infections urinaires avec bactériémies et / ou septicémies.

Le service le plus touché est celui d'urgences pédiatriques avec un pourcentage de 27%, ceci pourrait être dû au fait que les enfants principalement les nouveaux nés ont souvent une immunité faible par rapport aux adultes, suivi du service d'urgence de médecine où se trouvaient des sujets immunodéprimés expliquant la présence de ce germe.

L'étude menée montre une prédominance des patients de sexe féminin atteint de bactériémie, ce qui est différent avec celui de l'étude de BENMESBAH(2019) qui a rapporté que le taux élevé des femmes atteints de bactériémie est sans explication précise.

Les souches d'*E coli* isolées dans le prélèvement d'hémoculture représentent une sensibilité totale à la colistine, la Gentamicine et à l'Imipenème, ce qui est similaire aux résultats rapportés par AICHE(2022) au CHU de Tizi Ouzou et de même aux résultats de BENMESBAH(2019) au CHU de Blida.

Le taux de résistance le plus élevé est noté pour la Céfazoline, l'ampicilline, l'amoxicilline et la ticarcilline. Ceci est proche des résultats de BENMESBAH(2019) au CHU de Blida. Pour l'ampicilline ; elle agit comme un inhibiteur irréversible de la transpeptidase, une enzyme indispensable aux bactéries pour la synthèse de leurs parois cellulaires. Elle inhibe la troisième et dernière étape de la synthèse de la paroi bactérienne et conduit à la lyse cellulaire.

L'infection urinaire est l'une des infections bactériennes les plus fréquentes dans le monde. Les caractéristiques cliniques peuvent aller d'une septicémie asymptomatique à sévère causées par la colonisation d'uropathogènes dans les voies urinaires.

En effet, sur tous les échantillons analysés, 71% se sont révélés positifs pour les infections urinaires, 69% étaient des femmes. Cette prédominance s'explique notamment

par la différence anatomique entre les sexes, avec un urètre plus court chez les femmes, favorisant la remontée des bactéries vers la vessie.

Nous avons observé des niveaux élevés de résistance à l'ampicilline, à la ticarcilline et à la cefazoline ; ce qui est similaire à les résultats de AIT MIMOUNE (2022). Ceci pourrait être associé au taux élevé de prescription de ces antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes en Algérie. En effet, l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques à large spectre par les patients est la principale cause de l'émergence de résistance causée des mutations bactériennes (AL-ZAHRANI, 2019).

La présente étude a révélé que l'imipénème est un antibiotique actif sur les isolats d'*E. coli*. L'absence de résistance à cet antibiotique parmi les isolats d'*E. coli* pourrait être due à sa faible prescription dans notre pays, du fait que c'est un antibiotique de dernier recours. Nos résultats sont en cohérence avec ceux d'AIT MIMOUNE (2022).

Le sulfaméthoxazole-triméthoprimine est un antibiotique largement utilisé dans le traitement des infections urinaires mais aussi dans le traitement des infections digestives et respiratoires (DEMIR *et al.*, 2020). Ce qui explique le taux de sensibilité d'*E. coli* retrouvé dans notre étude.

Dans ce travail deux souches uniquement ont été isolées révélées chez un nouveau-né et un enfant. Nos résultats sont similaires avec étude menée dans l'hôpital Mustapha Bacha à Alger (DJENNAS, 2016). La présence d'*E. coli* dans les coprologies des nouveau-nés et des enfants peut être due à plusieurs commensales de l'intestin humain, c'est-à-dire qu'elle fait partie de la flore intestinale normale. Cependant, certaines souches pathogènes d'*E. coli* peuvent causer des infections gastro-intestinales chez les nouveau-nés et les enfants, notamment la diarrhée.

Les souches d'*E. coli* isolées à partir de prélèvement de coprologie chez les enfants avaient une forte résistance à l'ampicilline, à la ticarcilline. Les souches ont également montré une résistance modérée à la ciprofloxacine. Par contre, les souches étaient sensibles à l'imipénème, à l'amikacine, à la gentamicine et à la nitrofurantoïne. Nos résultats sont similaires à l'étude de DJENNAS *et al.* (2016). La sensibilité de ces souches pourrait être due à leur mécanisme d'action différent. L'imipénème appartient à une classe des carbapénèmes, qui inhibe la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. L'amikacine et la gentamicine sont des aminosides qui agissent en se liant à la sous-unité 30S du ribosome bactérien, inhibant ainsi la synthèse protéique.

Les prélèvements de pus présentent une prédominance de sexe masculin (64%) par rapport au sexe féminin, cela estime que les hommes sont en général plus exposés aux ulcères et aux amputations ; aussi pourrait être due selon MOSS *et al.*, (1992), à l'hygiène personnelle qui joue un rôle dans les infections cutanées chez l'homme.

Escherichia coli représentaient également 19 % de l'ensemble des germes isolés de nos prélèvements de pus. La majorité de ces souches présentait une résistance très élevée aux antibiotiques à savoir : l'amoxicilline, l'ampicilline, et la ticarcilline ; des résultats similaires à ceux de AHANOGBE KOKOU (2014) à Bamako.

Chez l'association amoxicilline/acide clavulanique (32%) et céfotaxime (36%), ces taux observés sont similaires à ceux de BARIKA et BOUSSAIDI (2019). En revanche, ils sont différents de l'étude réalisée en 2014 par AHANOGBE KOKOU.

D'autre part, l'*E. coli* montre une sensibilité très élevée à la colistine, à l'imipénème et l'ertapénème. Ces résultats concordent avec ceux de BARIKA et BOUSSAIDI (2019). Cependant, dans nos résultats une très faible résistance a été marquée pour l'imipénème et l'ertapénème ce qui serait due à la production de carbapénémases qui dégradent les carbapénèmes, ce qui rend les traitements antibiotiques moins efficaces. Cette résistance pourrait être causée par acquisition des gènes de résistance soit par mutation ou par transfert horizontal des gènes (ZHANG *et al.*, 2019).

Dans notre étude 7% d'*E. coli* ont été productrices de BLSE. Dans le rapport d'évaluation 2015 de l'AARN le pourcentage d'*E. coli* BLSE est plus élevé par rapport à nos résultats, comme au niveau du CHU Mustapha Bacha d'Alger où 25,9% des *E. coli* présentent une BLSE.

D'après nos résultats, *Escherichia coli* est hautement résistante à la famille des bêta-lactamines (céfazoline 94%, ampicilline 82%, ticarcilline 70%, céfotaxime 70%, amoxicilline/acide clavulanique 63%) par rapport aux autres antibiotiques. La résistance est très élevée en raison de la production de bêta-lactamases plasmidiques qui hydrolysent ces antibiotiques. Selon une étude PETOUT *et al* (2008), les bêta-lactaminases BLSE sont capables de dégrader les bêta-lactamines en raison de mutations dans leur structure qui leur permettent de reconnaître et de se lier à un plus grand nombre de substrats antibiotiques et une autre étude publiée par LIVERMORE (2018) a montré que la résistance d'*E. coli* BLSE à la famille des bêta-lactamines était également due à des facteurs tels que la perméabilité réduite de la

membrane cellulaire et la surproduction d'effleurs de médicaments, qui peuvent empêcher les antibiotiques de pénétrer dans la cellule bactérienne et de se lier à leur cible.

Conclusion

Conclusion

E. coli est une bactérie du tube digestif naturellement sensible à de nombreux antibiotiques, mais elle peut acquérir de nombreux mécanismes de résistance causant de réelles difficultés thérapeutiques. En effet, elle représente la cause principale de plusieurs infections chez l'Homme.

Notre étude menée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital de CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, sur une période de trois mois a permis de relever que 227 souches d'*E. coli* ont été identifiées durant notre période d'étude, et que la prédominance des isolats provenaient des prélèvements urinaires (71%) et où le service le plus touché par *E. coli* est celui d'urgence pédiatrique (28%).

La répartition des souches d'*E. coli* selon le sexe montre un pourcentage fréquemment élevé chez les femmes (69%) spécialement dans les prélèvements des urines ainsi que dans les prélèvements d'hémoculture (62%) ; contrairement aux pus avec un pourcentage plus élevés chez les hommes (64%). Pour la coprologie les souches ont été isolées chez un nouveau-né et un enfant.

Les antibiogrammes réalisés sur l'ensemble des prélèvements nous a permis de noter que *E. coli* présente des fortes sensibilités à la classe des carbapénèmes (Ertapénème et imipénème), les aminosides et à la colistine. Par contre, des résistances remarquables sont déterminées à la famille des bêta-lactamines tels que l'ampicilline, ticarcilline, céfazoline, amoxiciline/acide clavulanique et céfotaxime. De plus, 7% des souches d'*E. coli* sont productrices des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Enfin, cette étude permet d'attirer l'attention à mieux connaître les souches de milieux hospitaliers et leur profil de résistances et de sensibilités aux antibiotiques, dont l'émergence des souches résistantes conduit à l'apparition des infections spectaculaires, dues principalement à l'usage excessif et inapproprié de ces antibiotiques, ce qui est devenu un problème sérieux à l'échelle mondiale.

Pour lutter contre la résistance d'*E. coli*, il est nécessaire de promouvoir une utilisation responsable des antibiotiques cela comprend l'utilisation approprié d'antibiotique en suivant la prescription médicale, la recherche des nouvelles thérapies et l'application des règles d'hygiène strictes.

Références bibliographique

Références bibliographiques

-A-

- **AARN (Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux**
- **ABADA S., ROUIDJI W. (2020).** Etude du profil microbiologique des infections urinaires dans la région de Ouargla. Mémoire de Master II. Université de Ouargla.P171.
- **ABRAHAM M. (2018).**Identification des souches d'*Escherichia coli* dans les selles en rapport avec la malnutrition a Dioro. Mali : Universtité des Sciences, des Techniques et Technologies des BAMAKO.
- **AHANOGBE KOUKOU A. L. (2014).**Résistance bactérienne en cas d'identification de plaies diabétiques : diagnostic et surveillance au laboration Rodolphe Mérieux de BAMAKO.Thèse de doctorat en pharmacie. Université des sciences des techniques et des technologies de BAMAKO.
- **AICHE N. (2022).**Bacteriémies au CHU de Tizi-Ouzou : Aspect bactériologique et résistance aux antibiotique. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Algérie.
- **AIT MIMOUNE N., HASSAINE H. and BOULANOIR M. (2022).**Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* en Algeria. Labo of Micro. University Bouira. Algeria. 14: 160-156.
- **ALEKSHUN M.N. and LEVY S.B. (2007).**Molecular mechanisms of antibacterial multidrug.
- **AL-SAIEDI R. L. R. and AL-MAYAH A. A. S. (2014).** Pathogenicity Testing of Several APEC Isolates Obtained from Naturally Infected Broiler Birds Reared in Basrah. International Journal of Poultry Science 13 (7) : P 374-378.
- **AL-ZAHRANI J., AL DOSSARI K., GABR AH., AHMED AF., AL SHAHRANI SA. and AL-GHAMDI S. (2019).** Antimicrobial resistance patterns of uropathogens isolated from adult women with acute uncomplicated cystitis. *BMC Microbiol.* 19: 237.
- **ANDERSSON D. I. and HUGHES D. (2010).** Antibioticresistance and its cost:is it possible to reverse resistance?.*Nat RevMicrobiol.*8:260-71
- **Antibiotiques). (2017).** 16 éme Rapport d'évaluation 2015. Publier 2017.85-96.
- **ARCHAMBAUD M. (2009).** Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse.

-B-

- **BAKHOUM I. (2004).**Contrôle de qualité et validation de différent micro méthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharm., n° 8.
- **BANIK., BIMAL K. (2017).** Béta-lactams:Novel Synthetic pathways and applicationSpinger.P291.
- **BARIKA N et BOUSSIADI. (2019).**Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées à partir des plaies chirurgicales infectées. Université M'Hamed Bougara de Boumerdes. P 43-41.
- **BENMESBAH K. (2019).**Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des bactériémies. Université Blida.P 43-57.
- **BERSHE P., GAILLARTJ L., Simonet M. (2007).**Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Paris. P248.
- **BOULAHBAL F. (2006).** Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires.Alger.5ème édition. P173.
- **BOUYAHYA A., BAKRI Y., Et-TOUYS A., TALBAOUI A., KHOUCHLAA A., CHARI S. et DAKKA N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. P1-11.
- **BRYSKIER A., ACAR J., CLAUSER M. et MOREILLON PH. (1999).** Antibiotiques : agents antibactérien et antifongiques. Edition Ellipses.Paris.
- **BUSH K. and JACOBY GA. (2010).** Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 54: 969-76.

-C-

- **CARLE S. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !.Pharmactuel. 42.
- **CHALMERS R and AIRD D. F. (2000).**Waterborne*Escherichia coli*O157. *Journal of AppliedMicrobiology*. 88 : 124-132.
- **CHARDON H. et BRUGERE H. (2014).** Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Disponible sur : www.civ-viande.org
- **COLLIN B. (1992).**Petit dictionnaire de la médecine de gibier. Peron. Liege. P36.
- **COURVALIN P. et LECLERCQ R. (2012).**ANTIBIOGRAMME. Edition ESKA.
- **CRISTAIN C. (2008).** Microbiologie hygiène Bases microbiologiques de la diététique.
- **CROXEN MA., FINLAY BB. (2010).** Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat RevMicrobiol*. 8(1):26-38.

-D-

- **DEMBEL M. (2006).** Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* au laboratoire de L'HGT de février 2002 à décembre 2004. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de pharmacie et d'Odontostomatologie. P 76.
- **DEMIR M. and KAZANASMAZ H. (2020).** Uropathogens and antibiotic resistance in the community and hospital-induced urinary tract infected children. *J Glob Antimicrob Resist.* 20: 68- 73.
- **DJENNAS M.et al. (2016).**Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes in children with acute diarrhea in Alger, Algeria. *Journal of food and nutrition research.* 4 (9):576-580.
- **DOUBLET. et al. (2012).**Antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovations Agronomiques.*24 :79-90. Disponible sur [:https://www6.inra.fr/ciag/content/download/3807/.../Vol24-6-Doulet.pdf...](https://www6.inra.fr/ciag/content/download/3807/.../Vol24-6-Doulet.pdf...)

-E-

- **EUDIER J.P. (2011).**La bactérie *Escherichia coli*.

-F-

- **FERNANDES R., AMADOR P. and PRUDENCIO C.(2013).**β-lactams:chemical structure mode of action and mechanisms of resistance.*Rev Med Microbial.* 24:7-17.

-G-

- **GRIMONT P. A. D. (1987).** Taxonomie des *Escherichia*.*Médecine Mal. Infect.*17 : 6–10.
- **GUARDABASSI L. and COURVALIN P. (2006).**Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin.* ASM Press: Washington.p 1-18.
- **GUINOISEAU E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pasquale Paoli.

-H-

- **HAOUZI R. (2013).** Etude biologique des effets des microondes sur *Escherichia coli*. Mémoire. Université des sciences et de la technologie d'Oron Mohamed Boudiaf. P60. Disponible sur : <http://www.sylviesimonrevelations.com/article-la-bacterie-escherichia-coli-par-le-dr-jeanpierre-eudier-76675319.html>.

-J-

- **JOLY B. et REYNAUD A. (2002).** Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic. Edition TEC & DOC.

-K-

- **KING L.A.E., LOUKIADIS P., MARIANI-KURKDJIAN S., HAEGHEBAERT F. X., WEILL C., BALIERE S., GANET M., GOUALI V., VAILLANT N., PIHIER H., CALLON R., NOVO O., GAILLOT D., THEVENOT-SERGENTET E., BINGEN P., CHAUD and H. de Valk. (2014).** Foodborne transmission of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:[H7] via ground beef: an outbreak in northern France, 2011. *Clin Microbiol and Infect.* 20 (12):O1136-1144.
- **KIRKIACHARIAN S. (2010).** Guide de chimie médicinale et médicament. Edition Tec and doc. Lavoisier.
- **KUMAR A. and SCHWEIZER H.P. (2005).** Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57: 1486-1513.

-L-

- **LAVIGNE J. (01-2007).** EFFETS DES ANTIBIOTIQUES et MÉCANISMES DE RÉSISTANCE, MB7 : Bactériologie, Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.
- **LAZOUL K. et RAHI I. (2014).** Etude des mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans la région de Touggourt. Mémoire. Université kasdi Merbah Ouargla. P 66.
- **LE TURNIER S., NORDMANN P., EB F. and MAMMERI H. (2009).** Potential evolution of hydrolysis spectrum for AmpC beta-lactamase of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Agents Chemother.* 63:216-8.
- **LI X.Z. and NIKAIDO H. (2004).** Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drug.* 64:159-204.
- **LIVERMORE D.M. (2008).** Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol and infect.* 14(1):3-10.

- **LOUISE G. et PISTES. (2002).** La résistance bactérienne aux antibiotiques .Université Laval. Disponible sur :

www.pistes.fse.ulaval.ca/sae/?no_version=2055

- **LOVE T. and JONES B. (2008).**Introduction to Pathogenic Bacteria. Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems.P 1-13.
- **LOZNIIEWSKI A. et RABAUD C. (2010).** Résistance aux antibiotiques. CCLIN Sud-Est. Résistance. *Cell.* 128: 1037-1050.

-M-

- **MEHDI S. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat. THESE de Doctorat en Pharmacie. RABAT : université Mohammed v faculté de médecine et de pharmacie. P 48-51.
- **MOSS SE., KLEIN R. and KLEIN B.(1992).**The prevalence and incidence of lower extremity amputation in a diabetic population. *Arch Intern Med.* 152:610-6.
- **M.F.A. Wouters., J.E.M. van Koten-Vermeulen., F.X.R. van Leeuwen.**Toxicology Advisory Centre. National Institute of Public Health and Environmental Protection. Bilthoven, Netherlands.

-N-

- **NAUCIEL C. and VILDE J. (2007).**Bactériologie médicale. Elsevier Masson SAS.
- **NIKAIDO H. (2009).** Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.* 78:119-146.
- **NOLAN L K., BARNES H J., VAILLANCOURT J P., ABDUL-AZIZ T. and LOGUE C M. (2013).** Colibacillosis in *Diseases of Poultry*, 13th edition. wiley-blackwell. P 751-805.
- **NORDMANN P., GNIADKOWSKI M., GISKE C.G., POIREL L., WOODFORD N., MIRIAGOU V. and ON CARBAPENEMASES E. N. (2012).** Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol and Infec.* 18(5): 432-438.

-O-

- **Organisation mondiale de la santé (OMS). (16 nov 2015).**Thème de santé : résistance aux médicaments.
Disponible sur : www.who.int/mediacentre/factsheets/antibioticresistance/fr/

- **OWENS JR R.C. and SHORR A.F. (2009).** Rational dosing of antimicrobial agents: pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies. *American Journal of Health-System Pharmacy*.66 (12_Supplement_4):S23-S30.P 122- 123.

-P-

- **PANTEL A. (2016).** Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et l'efflux membranaires chez *E coli* ST131.
- **PATERSON D. LI. and BONOMO R. A. (2005).** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update .*ClinMicrobiol Rev.* 18: 657-686.
- **PITOUT J.D. et al. (2008).**Extended-spectrum beta-lactamases: a global public health concern.*The Lancet Infectious Diseases:* 8(3):159-166.
- **POOLE K. (2001).** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *CurrOpinMicrobiol.* 4: 500-508.

-S-

- **SAVARD P. (12-2008).** Caractérisation structurale et dynamique de la Bêta-Lactamase TEM-1 de la bactérie *Escherichia coli* par RMN liquide. Thèse Doctorat en biochimie.Université Laval.
- **SOUNA D. (2011).** Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U sidi Bel Abbes. Mémoire. Université Abou Bekr Belkaid.P104.
- **STENUTZ R., WEINTRAUB A. and WIDMALM G. (2006).** The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev.* 30(3):382-403.
- **STEPHANIE F. (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9entre *Salmonella* et les enterobacteries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitementantibiotique. Médication.Université Rennes 1.France
- **STEWART et al. (2015).** Plos Biology February.
- **SYKES R., CIMARUSTI C., BONNER D. and al. (1981).**Monocyclic β -lactam antibiotics produced by bacteria. *Nat.* 219:489-491.

-V-

- **VAISH R., PRADEEP M., SETTY C. and KANDI V.(2016).**Evaluation of Virulence Factors and Antibiotic Sensitivity Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Extra intestinal Infections. *Cureus.* 8(5): p 604.

- **VIDIC J., MANZANO M., CHANG C-M. and JAFFREZIC- RENAULT N. (2017).** Advanced biosensors for detection of pathogens related to livestock and poultry. *Vet Research* 48:11
- **VODOVAR D., MARCADE G., RASKINE L., MALISSIN I. and MEGARBANE B. (2013).** *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta-lactamase: epidemiology, risk factors, and prevention. *Rev Med Interne.* 3411 : 687-93.

-W-

- **WISTRAND-YUEN E., KNOPP M., HJORT K., KOSKINIEMI S., BERG O. G and ANDERSSON D. I. (2018).** Evolution of high-level resistance during low-level antibiotic exposure. *Nature Communications.* 9(1): 1–12.

-Y-

- **YALA. et al. (2001).** CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES. *Medicine du Maghreb ; n°91.*

-Z-

- **ZHANG Y et al. (2019).** Molecular epidemiology and resistance mechanisms of carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolated from Chinese patients during 2005-2014. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 63(5): 2491-18.

Les liens:

-ANONYME 01 :ResearchGate1

-ANONYME 02:http://textbookofbacteriology.net/antimicrobial_4.html

-ANONYME03:https://www.researchgate.net/figure/5628329_fig2_Fig-2-Chemical-structure-of-the-four-dominant-antibiotics-detected-in-the-Seine-River

-ANONYME 04:<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/quinolones>

Annexes

Annexe 1 : Matériel

1-Matériel du laboratoire

1-2.Appareillage et verreries

- Bac bunzen
- pipettes pasteur stérile
- lames et lamelles
- biotes de Pétri stériles
- écouvillons stériles jetables
- Pied à coulisse
- Pince
- Poire
- Microscope optique
- Bact-alert
- Cellule de Malassez

- Anse de platine
- Etuve
- Seringues stériles
- Jarre
- Disques d'antibiotiques
- portoir
- Api 20E
- Micropipette
- Densitomètre
- Ambouts stériles
- tubes sec stériles
- VITEK

1-2.Produits et réactifs

- Eau physiologique stérile à 0,9 ;
- Huile d'immersion ;
- Violet de gentiane ;
- Lugol

- Alcool à 90%
- Fuchsine
- Réactif Kovacs-Réactif TDA (perchlorure de fer)
- NaOH ou KOH (VP1)
- Alpha- Naphtol (VP2)
- Réactif de catalase

1-3.Milieus de culture

- Gélose nutritive
- Milieu Héктоen
- Milieu chromogène
- Gélose au sang frais
- Gélose au sang cuit
- Milieu Chapman
- Milieu Mueller Hinton
- Bouillon BHIB
- Bouillon SFB
- Milieu sabouraud

Annexe 2 :Liste d'antibiotiques testés pour les entérobactéries.

Antibiotique	Charges (μg)	abréviation	Familles des antibiotiques
Ampicilline	10	AMP	β -lactamines
Amoxicilline+acide clavulanique	20	AMC	
Aztréonam	30	ATM	
Céfalozoline	30	CZ	
Céfoxitine	30	FOX	
Céfotaxime	30	CTX	
Imipenème	10	IMP	
Ertapénème	10	ETP	
Amikacine	30	AK	Aminosides
Gentamicine	10	GM	Quinolones
Acide nalidaxique	30	AN	
Ciprofloxacine	5	CIP	Polymyxine
Colistine	10	CL	
Chloramphénicol	30	C	Phénicoles
Triméthoprime+sulfaméthoxazole	1.25+23.75	SXT	Sulfamides
Fosfomycine	50	FOS	Phosphonomycines

Annexe 3 : composition des milieux.**Gélose Nutritive : qsp/L**

- Extrait de viande : 1,0g.
- Extrait de levure : 2,5g.
- Peptone : 5,0g
- Chlorure de sodium : 5,0g
- Agar-agar :15,0 g
- pH=7,0.

Gélose Mueller-Hinton : qsp/L

- Infusion de viande de bœuf : 300,0ml.
- Peptone de caséine : 17,5 g.
- Amidon de maïs : 1,5 g.

- Agar : 17,0g.
- pH : 7,4.

Gélose Hektoen : qsp/L

- Proteose-peptone : 12,0 g
- Extrait de levure : Facteur de croissance 3,0 g
- Lactose : critère de différenciation 12,0 g
- Saccharose : critère de différenciation 12,0 g
- Salicine : critère de différenciation 2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S 1,5 g
- Sels biliaires : inhibiteur 9,0 g
- Fuchsine acide : inhibiteur 0,1 g
- Bleu de bromothymol : indicateur de PH 0,065 g
- Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- Thiosulfate de sodium : précurseur d'H₂S 5,0 g
- Agar 14,0 g
- pH= 7,5±0,2

Gélose Chapman :qsp/L

- Peptone : 10 g
- Extrait de bœuf : 1 g
- Chlorure de sodium : 75 g
- D-mannitol : 10 g
- Rouge de phénol : 25 mg
- Agar 15 g
- PH=7,4±0,2 à 25°C

Gélose Sabouraud :qsp/L

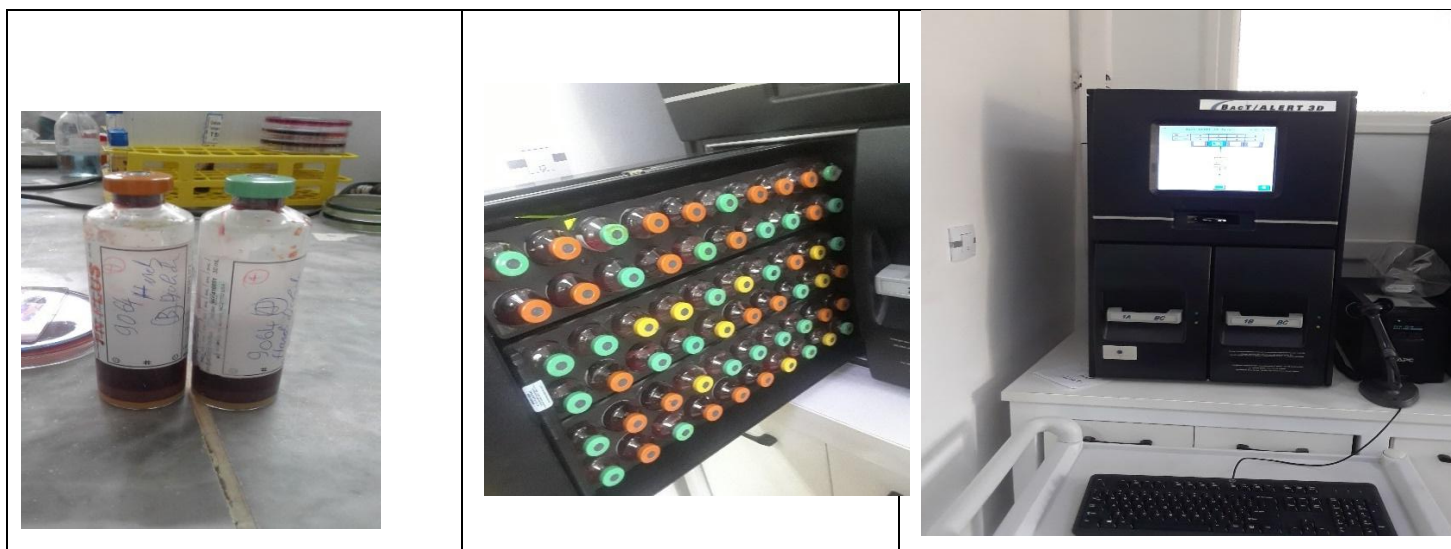
- Peptone 10 g
- Glucose massé 20 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillé (qsp) 1000 ml
- Vitamine et facteurs de croissance

- PH=6,0

Bouillon BHIB :qsp/L

- Protéose-peptone 10,0g
- Infusion de cervelle de veau 12,5 g
- Infusion de cœur de bœuf 5,0 g
- Glucose 2 ,0 g
- Chlorure de sodium 5, 0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium 2,5g
- PH =7,4

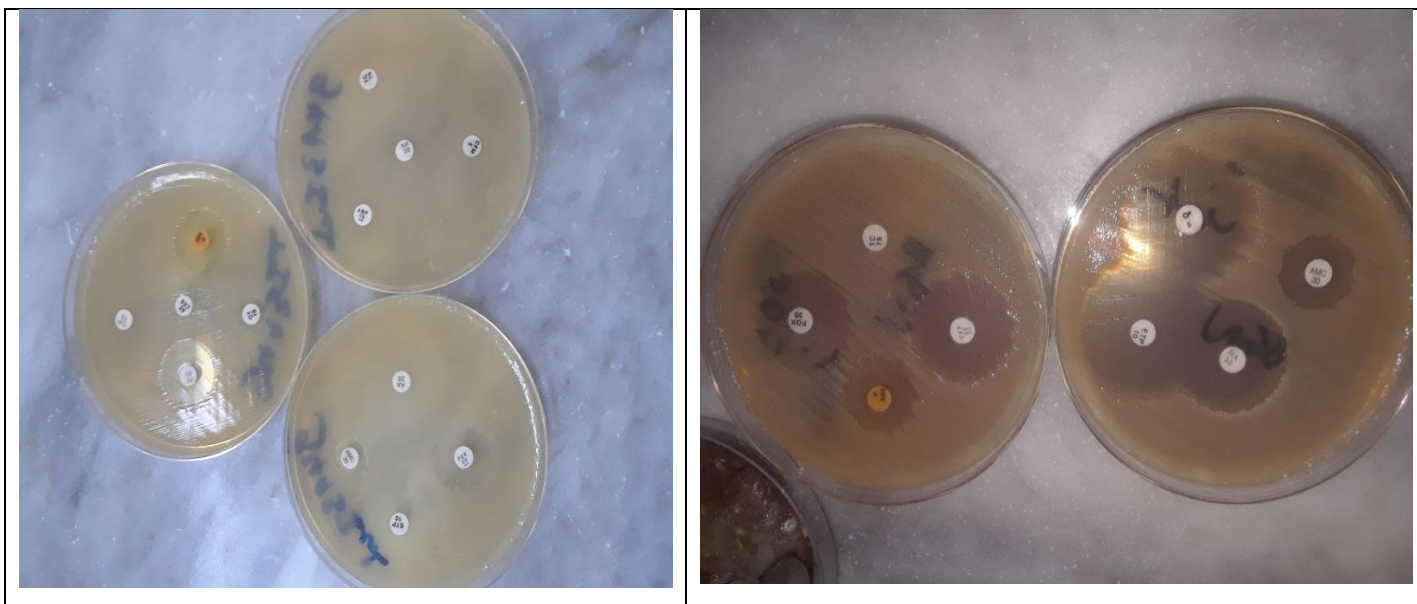
Annexe 4 :l'appareil de Bact-alert et ces éléments.



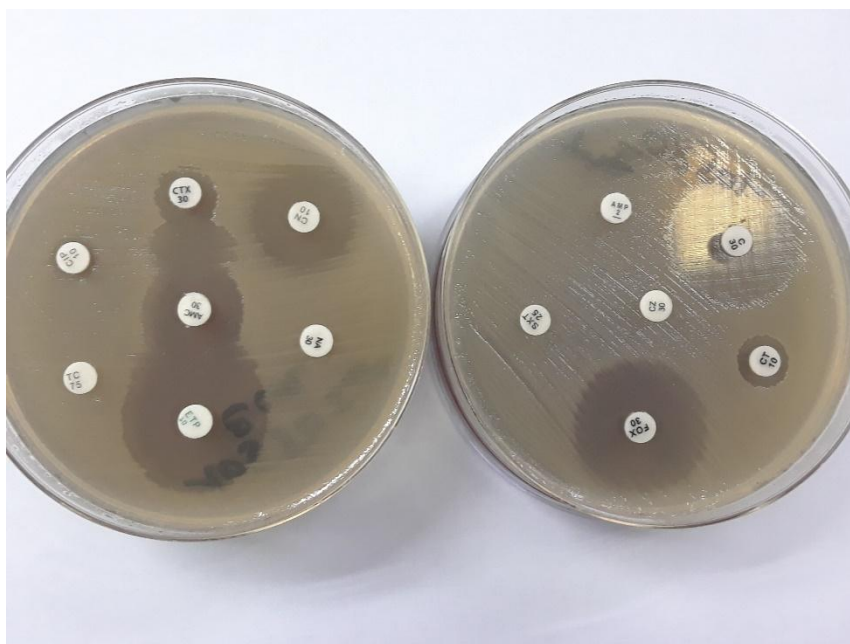
Annexe 5 : les incubateurs.



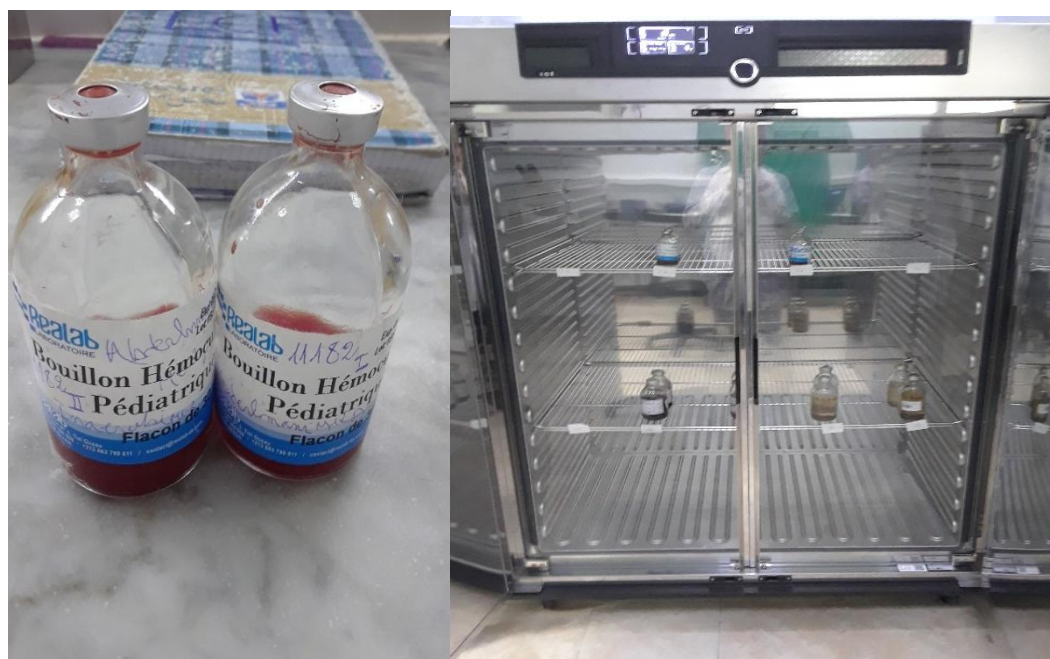
Annexe 6 : les antibiogrammes des souches *E. coli* isolées à partir de prélèvement urinaire



Annexe 7 : Antibiogramme d'une souche *E. coli* BLSE+.



Annexe 8 : les flacons de verre et leur incubateur

Annexe 9 : Taux de résistance et de sensibilité des souches d'*E. coli* isolées à partir des pus

(n=44).

Antibiotiques	Diamètres critiques (mm)		Résistance		Sensibilité	
	R	S	Nombre	Taux(%)	Nombre	Taux(%)
AMX	/	/	30	68	7	16
AMP	≤ 13	≥ 17	30	68	6	14
CZ	≤ 19	≥ 23	26	59	13	30
FOX	≤ 14	≥ 18	3	7	16	36
CTX	≤ 22	≥ 25	16	36	21	48
AMC	≤ 13	≥ 18	14	32	20	45
IMP	≤ 17	≥ 23	1	2	36	82
ETP	≤ 18	≥ 22	1	2	36	82
AK	≤ 14	≥ 17	/	/	25	57
GM	≤ 12	≥ 15	3	7	38	86
AN	≤ 13	≥ 19	2	5	5	11
CIP	≤ 21	≥ 26	16	36	24	55
CL	/	/	/	/	44	100
C	≤ 12	≥ 18	6	14	15	34
TIC	/	/	30	68	2	5
SXT	≤ 10	≥ 16	13	30	16	36
FOS	≤ 12	≥ 16	1	2	29	66
CF	/	/	2	5	11	25
NIT	/	/	3	7	15	34

Annexe 10 : Taux de résistance et de sensibilité des souches d'*E.coli* isolées à partir d'hémoculture (n=21).

Antibiotique	Diamètres critique (mm)		Résistance		Sensibilité	
	R	S	Nombre	Taux(%)	Nombre	Taux(%)
AMX	/	/	14	67	1	5
AMP	≤13	≥17	14	67	1	5
CZ	≤19	≥23	14	67	7	33
FOX	≤14	≥18	4	19	6	29
CTX	≤22	≥25	8	38	10	48
AMC	≤13	≥18	13	62	8	38
IMP	≤17	≥23	3	14	17	81
ETP	≤18	≥22	3	14	17	81
AK	≤14	≥17	/	/	12	57
GM	≤12	≥15	/	/	19	90
AN	≤13	≥19	/	/	6	29
CIP	≤21	≥26	9	43	10	48
CL	/	/	/	/	13	62
C	≤12	≥18	5	24	10	48
TIC	/	/	14	67	/	/
SXT	≤10	≥16	6	29	12	57
FOS	≤12	≥16	3	14	13	62
CF	/	/	5	24	5	24
NIT	/	/	/	/	10	48

Annexe 11 : Taux de résistance et de sensibilité de souches d'*E.coli* isolées à partir de la coprologie (n=2).

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)		Résistance		Sensibilité	
	R	S	Nombre	Taux(%)	Nombre	Taux(%)
AMP	≤13	≥17	1	50	1	50
CZ	≤19	≥23	/	/	2	100
FOX	≤14	≥18	/	/	2	100
CTX	≤22	≥25	/	/	2	100
AMC	≤13	≥18	/	/	2	100
IMP	≤17	≥23	/	/	2	100
ETP	≤18	≥22	/	/	2	100
AK	≤14	≥17	/	/	2	100
GM	≤12	≥15	/	/	2	100
AN	≤13	≥19	1	50	1	50
CIP	≤21	≥26	1	50	1	50
CL	/	/	/	/	2	100
C	≤12	≥18	1	50	1	50
TIC	/	/	1	50	/	/
SXT	≤10	≥16	1	50	1	50
FOS	≤12	≥16	/	/	2	100
CF	/	/	/	/	2	100
NIT	/	/	/	/	2	100

Annexe 12 : Taux de résistance et de sensibilité des souches d'*E.coli* isolées à partir des urines (n=160).

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)		Résistance		Sensibilité	
	R	S	Nombre	Taux(%)	Nombre	Taux(%)
AMX	/	/	96	60	37	23
AMP	≤13	≥17	70	44	6	4
CZ	≤19	≥23	67	42	62	39
FOX	≤14	≥18	4	3	58	36
CTX	≤22	≥25	23	14	76	48
AMC	≤13	≥18	40	25	79	49
IMP	≤17	≥23	/	/	94	59
ETP	≤18	≥22	/	/	91	57
AK	≤14	≥17	2	1	77	48
GM	≤12	≥15	11	7	73	46
AN	≤13	≥19	20	13	60	38
CIP	≤21	≥26	18	11	109	68
CL	/	/	/	/	106	66
C	≤12	≥18	3	2	40	25
TIC	/	/	50	31	22	14
SXT	≤10	≥16	23	14	53	33
FOS	≤12	≥16	7	4	90	56
CF	/	/	3	2	19	12
NIT	/	/	9	6	91	57

Résumé

E. coli est un commensale de tube digestif mais aussi un agent le plus fréquemment présent dans nombreuses infections (urinaires, bactériémie, infection des plaies...).

Notre étude a pour objectif d'évaluer le profil de la résistance aux antibiotiques de souches d'*E. coli* isolées de différents prélèvements pathologiques humains de, et l'hôpital CHU « Nedir Mohamed » de Tizi-Ouzou et de détecter la présence de souche d'*E. coli* productrices de BLSE (bêta-lactamase à spectre élargi).

La répartition de 227 souches d'*E. coli* isolées montre une prédominance de ce germe dans les prélèvements urinaires, dont le service le plus touché est celui d'urgence pédiatrique. De plus, les infections à *E. coli* ont atteints essentiellement le sexe féminin notamment dans les prélèvements urinaires et d'hémoculture.

Dans les différentes prélèvements, les souches isolées présentant des fortes résistances pour certains antibiotiques parmi eux la ticarcilline, ampicilline, amoxicilline et la céfazoline (86%), ainsi des taux de sensibilité très élevée à la colistine, ertapénème et à l'imipénème avec 80% à 100%. De plus, parmi les souches d'*E. coli* isolé 7% ont été BLSE+ et qui sont hautement résistantes à la famille des bêta-lactamines (céfazoline 94%, ampicilline 82%, ticarcilline 70%, céfotaxime 70%, amoxicilline/acide clavulanique 63%).

L'apparition de ces résistances serait due à la consommation abusive des antibiotiques, de ce fait il est nécessaire de promouvoir une utilisation appropriée d'antibiotique, la recherche de nouvelles thérapies et adopter des règles d'hygiène strictes.

Mots clés : *Escherichia coli* ; infection ; résistance aux antibiotiques ; bêta-lactamase à spectre étendue (BLSE).

Abstract

E. coli is a commensal of the digestive tract but also an agent most frequently present in many infections (urinary, bacteraemia, infection of wounds, etc.).

Our study aims to evaluate the profile of the resistance to antibiotics of strains of *E. coli* isolated from different human pathological samples from , and the CHU "Nedir Mohamed" hospital in Tizi-Ouzou and to detect the presence of a strain of *E. coli* that produce ESBL (extended-spectrum beta-lactamase).

The distribution of 227 strains of *E. coli* isolates shows a predominance of this germ in urine samples, the most affected department being the pediatric emergency department. In addition, *E. coli* infections mainly affected the female sex, particularly in urine and blood culture samples.

In the different samples, the isolated strains showing strong resistance to certain antibiotics, among them ticarcillin, ampicillin, amoxicillin and cefazolin (86%), as well as very high sensitivity rates to colistin, ertapenem and imipenem with 80 % 100%. In addition, among the strains of *E. coli* isolated 7% were ESBL+ and which are highly resistant to the beta-lactam family (cefazolin 94%, ampicillin 82%, ticarcillin 70%, cefotaxime 70%, amoxicillin/clavulanic acid 63 %).

The appearance of these resistances would be due to the excessive consumption of antibiotics, therefore it is necessary to promote an appropriate use of antibiotics, the search for new therapies and adopt strict hygiene rules.

Keywords: *Escherichia coli*; infection; antibiotic resistance; extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)