



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

Intitulé :

**Etude phénotypique des souches d'*Escherichia coli* multirésistantes
isolées de CHU Constantine**

Présenté et soutenu par : Bennini Assia

Le : 07/06/2017

Mehdi Khadidja

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Melle Abdelaziz W.

MAA-UFM Constantine

Rapporteur : Melle Meziani M.

MAA-UFM Constantine

Examinatrice : Melle Belmassikh A.

MAA-UFM Constantine

*Année universitaire
2016 - 2017*

Remerciements

Nous remercions ALLAH tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie jusqu'à la réalisation de ce travail.

À notre rapporteur Melle Meziani Meriem Maitre Assistante Classe A Université des Frères Mentouri Constantine 1

Nous somme infiniment reconnaissant pour votre investissement dans ce travail et pour la confiance que vous nous avez témoigné en nous permettant de traiter ce sujet de mémoire

Votre amabilité, votre sérieux, votre compétence, et surtout vos qualités humaines nous ont beaucoup marqué, vous avez toujours réservé un bon accueil malgré vos obligations professionnelles

Veillez recevoir, chère Maitre, l'expression de notre profonde considération.

À notre Maitre et Présidente de mémoire Melle Abdelaziz Wided Maitre Assistante Classe A Université des Frères Mentouri Constantine 1

Permettez-nous de vous exprimer nos sincères remerciements, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de ce mémoire avec plaisir et sans conditions

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.

Vos qualités humaines et professionnelles seront pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre métier.

À notre examinatrice de mémoire Melle Belmassikh Aïcha Maitre Assistante Classe A Université des Frères Mentouri Constantine 1

Nous somme infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi les membres de jury de ce mémoire, permettez-nous de vous témoigner toute notre admiration pour votre accueil sympathique. Nous vous prions d'accepter l'expression de notre respect et notre sincère reconnaissance.



Dédicaces

À mon cher grand-père Ahmed, aucune dédicace ne serait exprimé tout ce que je ressens pour vous, je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

À mon cher père, tu es pour moi l'exemple inégalable de la rigueur, de la patience et de la justice. Vous m'avez enseigné l'honneur, le respect de soi d'autrui et le travail bien. Que dieu vous garde pendant longtemps à nos cotés et qu'il exhausse vos bénédictions.

À ma tendre mère, ne serait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, je vous remercie pour tout le soutien que vous me porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours que ce modeste travail soit l'exhaussement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mes frères Mohamed Lamine et Marouan, les mots ne serait exprimer l'étendu de mon affection et de ma gratitude je vous dédie ce travail et vous exhorte resserrement des liens de la famille dans l'amour, le respect et le courage que notre seigneur vous accorde réussite, bonheur, santé et prospérité.

À ma chère sœur Amina, merci énormément pour ton soutien plus que précieux merci pour ton grand cœur toutes vos qualités qui seraient trop longs

À mon cher mari, ma moitié, l'homme de valeur, mon mentor, mon soutien et mon équilibre, qui je le trouve toujours à mes cotés, qui m'a toujours encouragé et qui a été compréhensif et patient.

À mes chères tantes :
Leila, Salima, Saida, Samia, Ouahiba, Malika, Samiha, Mina, Malika, Rofia, Daouia et Imène vous avez été toujours présents pour les bons conseils votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance puisse dieu vous accorder santé et prospérité.

À la mémoire de ma tante Chafika, mes grand mères Sakina et Khadidja et mon grand père Tahar qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur je vous dédie aujourd'hui ma réussite que dieu le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.



À mes oncles : Mohamed, Nader, Ali, Abdelhak, Riad, Abderahmen veuillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien encourageant et affection, j'espère que vous trouverez dans la dédicace de ce travail le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.

À mes cousins, je souhaiterais vous remercier et vous dédier ce travail. Peu importe la distance, je vous garde au fond de mon cœur, voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance puisse dieu vous garder toujours auprès de moi dans le bonheur et la prospérité.

Spécialement à mon binôme et ma partenaire dans ce mémoire : Assia, qui a partagé avec moi les moments difficiles pour ce travail, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tout les moments qu'on a passé ensemble.

À mes amies : Ilhem, Lamis, Anfel, Maroua, Hanen, Ahlem, du début à la fin vous avez été présent. Vous m'avez accueillie avec sincérité, et j'ai eu le privilège de trouver une deuxième famille à vos côtés, voici le reflet de l'amitié, de la bonne entente, et de l'aboutissement de tous vos efforts pour faire de moi ce que je suis, ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance et mon amitié sincère. Que le tout puissant, notre dieu vous comble de joie, de longévité et de santé.

À mes collègues, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter en témoignage de l'amitié qui nous uni des souvenirs de tout les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.



Khadidja

Dédicaces

À ma chère grand-mère Khoudjia, aucune dédicace ne serait exprimé tout ce que je ressens pour vous, je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

À mon cher père, tu es pour moi l'exemple inégalable de la rigueur, de la patience et de la justice. Vous m'avez enseigné l'honneur, le respect de soi d'autrui et le travail bien. Que dieu vous garde pendant longtemps à nos cotés et qu'il exhausse vos bénédictions.

À ma tendre mère, ne serait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, je vous remercie pour tout le soutien que vous me porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours que ce modeste travail soit l'exhaussement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mon frère Rafik et mes deux sœurs Mouna et Rania, les mots ne serait exprimer l'étendu de mon affection et de ma gratitude je vous dédie ce travail et vous exhorte resserrement des liens de la famille dans l'amour, le respect et le courage que notre seigneur vous accorde réussite, bonheur, santé et prospérité.

À mon ange, ma princesse adorée Mayssouna, que dieu tout puissant te donne une long vie avec beaucoup de santé et réussite et te préserve de mal.

À mes chères tantes : Amina, Warda, Djamila, Ratiba, Nadia, Hanifa, Nadra, Brigitte, rachida vous avez été toujours présents pour les bons conseils votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance puisse dieu vous accorder santé et prospérité.

À la mémoire de ma tante zoubida et ma grand-mère Aicha, et mes deux grand père Rabie, et Mohammed, qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur je vous dédie aujourd'hui ma réussite que dieu le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.



À mes oncles : Djamel, et Farid, veuillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien encourageant et affection, j'espère que vous trouverez dans la dédicace de ce travail le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.

À mes cousins, je souhaiterais vous remercier et vous dédier ce travail. Peu importe la distance, je vous garde au fond de mon cœur, voyez dans ce travail, le témoignage de ma reconnaissance puisse dieu vous garder toujours auprès de moi dans le bonheur et la prospérité.

Spécialement à mon binôme et ma partenaire dans ce mémoire : Khadidja, qui a partagé avec moi les moments difficiles pour ce travail, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tout les moments qu'on a passé ensemble.

À mes amis : Chaima, Fifi, Katia, Hind, Mayssa, Amel, Asma, Rayen, Kahina, Khadidja, Houda, Bob du début à la fin vous avez été présent. Vous m'avez accueillie avec sincérité, et j'ai eu le privilège de trouver une deuxième famille à vos côtés, voici le reflet de l'amitié, de la bonne entente, et de l'aboutissement de tous vos efforts pour faire de moi ce que je suis, ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance et mon amitié sincère. Que le tout puissant, notre dieu vous comble de joie, de longévité et de santé.

À mes collègues, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter en témoignage de l'amitié qui nous uni des souvenirs de tout les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.



Assia

LISTE DES ABREVIATIONS

- : Caractère négatif

+ : Caractère positif

°C : Degrés Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag A : Antigène capsulaire

Ag B : Antigène d'enveloppe ou de surface

Ag H : Antigène flagellaires

Ag K : Antigène de surface

Ag L : Antigène d'enveloppe

Ag O : Antigène somatique

ALA : Alanine

AMC : Amoxicilline+AC clavulanique

AMK : Amikacine

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATM : Aztreoname

AX : Amoxicilline

BG+ : Bactérie Gram positive

BGN : Bactérie Gram négative

BLSE : Betalactamase à spectre étendu

CACFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

CAZ : Ceftazidime

CFPM : Cefepime

CFZ : Cefazoline

CHU : L'hôpital universitaire Constantine

CIP : Ciprofloxacine

CLSI : Clinical Laboratory Standard Institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CT : Colistine

CTX : Cefotaxime

EC : *Escherichia coli*

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique

ERT : Ertapeneme

FOX : Cefoxitine

g : Gramme

GN : Gentamicine

HT : Teste Hodge

IPM : Imipeneme

LT : Thermolabile

Mac : Mac Conkey

MF : MAC Farland

Min : Minute

ml : Millilitre

mm : Millimètre

Nacl : Chlorure de sodium

NAL : Acide Nalidixique

ONPG : Orthonitrophényl- β -galactoside

OXA : Oxacillinase

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PLP : Protéines liant les pénicillines

SLT : Schiga-like toxine

ST : Thermostable

TPZ : Piperacilline+tazobactame

μ g : Microgramme

μ m : Micromètre

LISTE DES FIGURES

Figure 01: <i>Escherichia coli</i> , coloration de Gram (<i>Grain, x1000</i>).....	04
Figure 02 : <i>Escherichia coli</i> sur milieu de Mac Conkey.....	04
Figure 03 : Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques....	13
Figure 04 : Teste de Hodge modifié positif avec des souches d' <i>E. Coli</i>	28

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Quelques caractéristiques du genre <i>Escherichia</i>	05
Tableau n° 2 : Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane.....	19
Tableau n°3 : Antibiotiques actifs sur les membranes.....	20
Tableau n°4 : Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques.....	20
Tableau n°5 : Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques.....	21
Tableau n°6 : Classification des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates.....	21
Tableau n°7 : profile de résistance des souches résistantes à l'Ertapeneme productrices de carbapénèmases	27

Résumé

La résistance des bactéries à Gram négatif aux carbapénèmes constitue une menace de santé publique majeure à l'échelle mondiale. L'objectif de cette étude était d'étudier le phénotype de résistance de deux souches d'*Escherichia coli* multirésistantes (EC1, EC2) qui ont été isolées et identifiées à l'hôpital universitaire de Constantine (CHU), la sensibilité aux antimicrobiens a été déterminée à l'aide de la méthode de diffusion des disques sur le milieu gélosé Mueller Hinton. Comme résultats obtenus les deux souches de *E. coli* étaient résistantes à l'Ertapenème elles ont présentés un haut niveau de résistance aux beta-lactamines ainsi une résistance aux aminosides et aux quinolones, cependant elles étaient sensibles à l'imipénème et à la colistine. L'activité de la carbapénémase a été étudiée en utilisant un test Hodge, cette activité enzymatique est révélée par la déformation du cercle de la zone d'inhibition par la croissance des deux souches jusqu'au disque d'antibiotique. Nos résultats nous ont permis de déterminer le phénotype de la résistance par la présence des carbapénémases chez les deux souches testées. Seules les méthodes moléculaires (PCR, Séquençage) permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise les enzymes produites. Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés ou non, pour palier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de carbapénémases.

Abstract

The resistance of Gram-negative bacteria to carbapenems is a major public health threat globally. The objective of this study was to investigate the resistance phenotype of two strains of multiresistant *Escherichia coli* (EC1, EC2) that were isolated and identified at the University Hospital of Constantine (CHU), antimicrobial susceptibility Determined using the method of diffusion of the disks on the Mueller Hinton agar medium. As results obtained the two strains of *E. coli* were resistant to Ertapeneme they showed High level of resistance to beta-lactamies thus resistance to aminoglycosides And quinolones, however they were susceptible to imipenem and colistin. The activity of carbapenemase was studied using a Hodge test, this enzymatic activity is revealed by the deformation of the circle of the zone of inhibition by growth Of the two strains up to the antibiotic disc our results allowed us to determine the phenotype of the resistanc by the presence of carbapenemases in the two strains tested. Only molecular methods (PCR, Sequencing) allow us to characterize precisely the enzymes produced at the present time. These methods are carried out routinely in certain clinical laboratories, whether specialized or not, to overcome the problems of phenotypic detection of carbapenemase-producing microorganisms.

ملخص

مقاومة البيكتيريا Gram négatif للـ Carbapénèmes تشكل تهديدا كبيرا على الصحة العامة ، الهدف من هذه الدراسة هو دراسة مظهر المقاومة لسلاطين من *E coli* متعددي المقاومة (EC1 EC2)، اللتان تم عزلهما وتشخيصهما في المستشفى الجامعي لقسنطينة (CHU)، الحساسية اتجاه المضادات البيكتيرية حددت بالاستعانة بتقنية انتشار الأقراس في وسط أجار Mueller Hinton. كنتاج متحصلة، كلتي السلاطين كانت مقاومة للـ Ertapeneme كما أنهما أظهرتا مستوى عالي لمقاومة Beta-lactamines ومقاومة Aminosides و Quinolones ، كما أنهما أظهرتا حساسية للـ Imipineme و Colistine. نشاط الـ Carbapénémase تمت دراسته باستعمال اختبار Hodge ، هذا النشاط الانزيمي ظهر بانحراف دائرة منطقة التثبيط بسبب نمو السلاطين حتى قرص المضاد الحيوي ، نتائجا تسمح لنا بالكشف عن مظهر المقاومة بتواجد Les Carbapénèmases عند السلاطين المدروستين. ما عدا الطرق الجزيئية (PCR , Séquençage) التي تسمح في الساعة الحاضرة بتحديد خاصية الانزيمات المنتجة بطريقة محددة، يتم تنفيذ هذه الطرق بشكل روتيني سواء في المختبرات الطبية المتخصصة أو غيرها للتغلب على مشاكل الكشف عن مظهر الكائنات الدقيقة المنتجة للـ Carbapénèmases.

TABLE DES MATIERES

Introduction	01
--------------------	----

Chapitre I: *Escherichia coli*

1-Généralité.....	02
2-Habitat.....	02
3-Classification.....	03
4-Caractères bactériologique.....	03
4-1-Caractères morphologique.....	03
4-2-Caractères culturaux.....	04
4-3-Caractères biochimiques	05
4-4-Caractères antigéniques.....	06
5-Pouvoir pathogène.....	06
5-1-Les infections.....	06
5-1-1-Infection urinaire.....	06
5-1-2-Infection intestinale.....	07
5-1-3-Les septicémies méningites néo-natals.....	07
5-2-Facteurs de Pathogénécité.....	07
5-2-1-Capsule.....	07
5-2-2-Les adhésines.....	07
5-2-3- Toxines.....	08

Chapitre II : Résistance bactérienne

1-Définition.....	09
2-Types de résistance aux antibiotiques.....	09
2-1-Résistance naturelle (intrinsèque).....	09
2-2-Résistance acquise (extrinsèque).....	10
2-2-1-Les résistances chromosomiques	10
2-2-2-La résistance par acquisition de gènes.....	10
3-Mécanismes de résistance bactérienne.....	11
3-1-Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes.....	11
3-2-Diminution de perméabilité.....	11
3-3-Acquisition d'un déterminant de résistance exogène.....	11
3-4-Pompes (transporteurs) à efflux.....	12
3-5-Résistance inductible.....	12

3-6-Altération (ou modification) des sites de liaison.....	13
4- Multirésistance.....	13
5-Antibiogramme.....	14

Chapitre III : Les antibiotiques

1-Définition et historique.....	15
2-Types d'antibiotiques.....	15
3-Effets des antibiotiques.....	16
3-1-Antibiotique bactériostatique.....	16
3-2-Antibiotique bactéricide.....	16
3-2-1-Antibiotique à spectre large.....	16
3-2-2-Antibiotique à spectre étroit.....	16
3-2-3-Antibiotique à spectre moyen ou limité.....	17
4-Mode d'action des antibiotiques.....	17
4-1-Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne.....	17
4-2-Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique.....	17
4-3-Antibiotiques qui effectuant une inhibition de la synthèse protéique	18
4-4-Antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement des AN.....	18
5-Critère de classification.....	18
5-1-Structure chimique.....	18
5-2-Spectre d'action.....	18
5-3-Mécanisme d'action.....	19
6-Classification.....	19
7-Les carbapénèmases.....	21
7-1-Généralité.....	21
7-2-Définition.....	22
7-3-Teste Hodge.....	23

Matériels et méthodes

1-Matériels.....	24
1-1-Les souches étudiées.....	24
2-Méthodologie.....	24
2-1-Repiquage des souches.....	24
2-2-Préparation de Mueller Hinton.....	24
2-3-Préparation de l'eau physiologique.....	25
2-4-Préparation de l'inoculum.....	25

2-5-Antibiogramme.....	25
2-5-1-Mode opératoire.....	25
2-6-Test Hodge.....	26
2-6-1-Mode opératoire.....	26

Résultats et discussion

1-Résultats.....	27
1-1-Antibiogramme.....	27
1-2-Test Hodge.....	28
2-Discussion.....	29
-Conclusion et perspectives.....	31
-Référence bibliographiques	32
-Annexes.	/



Introduction

Introduction

Escherichia coli est l'agent le plus fréquent parmi les isolats cliniques provoquant une infection chez l'homme. Certaines souches d'*Escherichia coli* se caractérisent par leur résistance aux plusieurs antibiotiques ce qu'on appelle la multirésistance. La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue aujourd'hui un problème majeur de la santé publique. La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier [1].

Cependant, l'utilisation massive et parfois abusive des antibiotiques, en ville comme à l'hôpital, a modifié considérablement l'écologie microbienne et tend à augmenter le taux de bactéries résistantes. Parmi les antibiotiques pour les quelles les bactéries ont développée une résistance sont les beta-lactamines [2].

Les β -lactamines représentent la principale famille d'antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité. Ces β -lactamines à large spectre d'action sont spécifiquement utilisées dans le traitement des infections résistantes potentiellement mortelles causées par des bactéries multirésistantes [3] ;[4].

Les carbapénèmes sont l'une des classes d'antibiotiques de la famille des beta-lactamines, ils sont actifs sur la plupart des bacilles à Gram négatif notamment les entérobactéries. La résistance à ce type d'antibiotiques est un mécanisme de résistance particulièrement préoccupant émerge à travers le monde et concerne la production de nouvelles β -lactamases, les carbapénémases, qui sont des enzymes bactériennes capables d'hydrolyser le noyau β -lactame, rendant l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne les PLP, l'OXA-48 est l'une des carbapénémases les plus récemment décrites, structurellement différente des précédentes et essentiellement identifiée dans des pays méditerranéens [5] ;[6] ;[7].

L'objectif de notre travail a porté sur :

- L'étude de la sensibilité des deux souches d'*Escherichia coli* multirésistantes vis-à-vis différents antibiotiques par la réalisation d'un antibiogramme.
- Détermination phénotypique du mécanisme enzymatique responsable de la résistance de ces bactéries par le test Hodge.



**Revue
bibliographique**



Escherichia coli

Chapitre I : *Escherichia coli*

1- Généralité

La bactérie est désormais connue sous le nom *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois par un pédiatre allemand, Theodore Escherich, à la fin du XIXème siècle (Escherich, 1885), l'espèce *Bacterium coli* commune, isolée de selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel [8];[9].

On sait aujourd'hui que cette entérobactérie s'installe dans l'intestin des nouveau-nés rapidement après la naissance ; pendant un certain temps, elle constitue l'élément dominant de leur flore intestinale et elle reste présente chez l'adulte, après le décès de Theodore Escherich en 1911 et en son honneur, *Bacterium Commune* a été renommée *Escherichia coli* 1919 [9];[10].

Escherichia coli << colibacille >> 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 [11];[12].

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 (une division toutes les 20 min à 37 °C et en conditions favorables. Cependant, certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastroentérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies [12];[13].

2- Habitat

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'Homme. L'appellation commune "coli bacille" est une contraction de << bacille du côlon >> rappelant son caractère de bactérie commensale du tube digestif. Chez l'Homme, elle constitue l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie Chaque personne porte dans son tractus intestinale une population d'*E.coli*.

Par conséquent, *E. coli* se trouve fatalement dans les égouts. Cette niche, Si elle permet de répandre nombre de bactéries dans l'environnement puis vers d'autres animaux hôtes, ne semble pas propice à la propagation d'*E. Coli*. Cela fait de cette bactérie un excellent indicateur de la présence de matière fécale dans les eaux. Cette bactérie est également présente au niveau du revêtement cutané-muqueux, à proximité des orifices naturels [9];[14].

3- Classification

La classification d'*Escherichia coli* selon le Bergey's manual 2012 [15].

Règne	: <i>Procaryotae</i>
Domaine	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Classe	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	: <i>Enterobacteriales</i>
Famille	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	: <i>Escherichia</i>

4- Caractères bactériologiques

4-1- Caractères morphologiques

Bacille à bout arrondi, Gram-, mesure approximativement 2 à 4µm de longueur sur 0.6µm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chaînettes, et en quelques cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée. La **figure 1** représente une observation microscopique de coloration de Gram d'*Escherichia coli* [16];[17].



Figure1 : *Escherichia coli*, coloration de Gram (Grossissement, x 100) [17].

4-2- Caractères cultureux

Elle se développe en 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées Sur gélose au sang. Les colonies de *E. coli* sont lisses, gris terne, et de 2 à 3 mm de diamètre. Sur milieu Mac Conkey, Les colonies d'*E coli* Lactose-positives, sont de couleur rose à rouge, plates, sèches et de 2 à 3 mm de diamètre, elles sont généralement entourées d'une zone rose plus foncée des sels biliaires précipités. Les colonies *E. coli* Lactose-négatives produisent des colonies incolores sur Mac qui sont de 2 à 3 mm de diamètre. la **figure 2** représente la culture d'*Escherichia coli* lactose positive sur milieu Mac Conkey. [10];[17];[18].

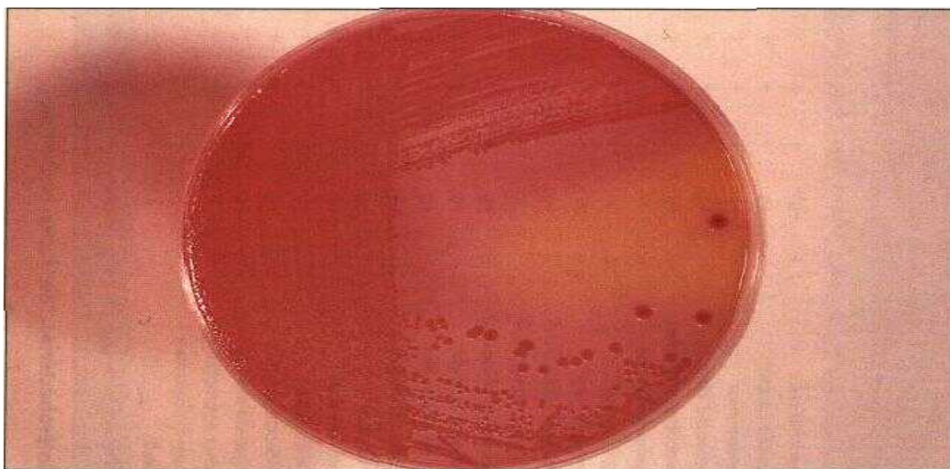


Figure2 : *Escherichia coli* sur milieu de Mac Conkey [17].

4-3- Caractères biochimiques

Quelques-uns des tests biochimiques les plus communément utilisés sont le type de fermentation formique, l'utilisation du lactose et du citrate, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène, pour identifier le genre *Escherichia*. Tableau 1 représente les principales caractéristiques d'*Escherichia coli* [10].

Tableau n°1 : Quelques caractéristiques du genre *Escherichia coli* [10].

Caractéristiques	<i>Escherichia coli</i>
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+
Voges-Proskauer	-
Production d'indole	+ (généralement présent)
Utilisation du citrate	-
Production de H ₂ S	-
Uréase	-
β-galactosidase	+ (généralement présent)
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	+ (généralement présent)
Ornithine décarboxylase	+ (généralement présent)
Mobilité	Péritriches si mobiles
Liquéfaction de la gélatine (22°C)	-
% de GC	48-59

- : Caractère négatif

+ : Caractère positif

4-4- Caractères antigéniques

L'étude de cette structure antigénique est très utile car certains sérotypes ont un pouvoir pathogène particulier. KAUFMAN a distingué trois variétés d'antigène O, H, K [19].

-L'antigène O, somatique, thermostable.

-L'antigène H, flagellaire présent chez les *Escherichia coli* mobile.

-L'antigène K, qui groupe trois variétés d'antigène de surface :

-L'antigène L, d'enveloppe thermolabile, qui possède une activité hémolytique et névrotique.

-L'antigène A, capsulaire thermostable.

-L'antigène B, d'enveloppe ou de surface, thermolabile. Ces travaux ont permis de préciser que le pouvoir pathogène d'une souche d'*Escherichia coli* dépend en partie de sa structure antigénique.

5- Pouvoir pathogène

5-1- Les infections

Escherichia coli peut provoquer plusieurs infections [20];[21].

5-1-1- Infection urinaire

E. coli est la bactérie le plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires quelles soit basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite) l'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravidité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite. *E. coli* est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales.

5-1-2- Infection intestinale

E. coli peut être responsable de gastro-entérite ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique. Les diarrhées dues à *E. coli* sont probablement peu fréquentes dans nos régions actuellement. Elles sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement et peuvent atteindre les voyageurs qui les visitent (<<tourista>>). Elles relèvent de mécanismes physiopathologiques multiples qui seront discutés plus loin.

5-1-3- Les septicémies méningites néo-natales

Les nouveau-nés se contaminent la plus part du temps au moment de l'accouchement par passage à travers les voies génitales ou à la suite d'une infection ascendante du liquide amniotique par rupture prématurée des membranes. Si la colonisation des nouveau-nés est fréquente à partir de la flore vaginale, seul 1 % des enfants contaminés avec des souches potentiellement virulentes vont présenter une infection disséminée.

5-2- Facteurs de Pathogénicité

Il existe différents facteurs de pathogénicité chez *Escherichia coli* [20].

5-2-1- 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 (elle a la même structure que la capsule de méningocoque du groupe B). Ce sont les *E. coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néonatales.

5-2-2- Les 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.

5-2-3- Toxines

Certaines souches peuvent produire une hémolysine, une enterotoxine thermolabile (LT) ou thermostable (ST) ou bien une toxine analogue à la toxine de *Shigella dysenteriae*, la *Shiga-like toxine* (SLT ou Stx).



Résistance bactérienne

Chapitre II : Résistance bactérienne

1- Définition

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. On effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression <<résistance bactérienne aux antibiotiques>>, qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques, cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employés se fondent sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques (résistance in vivo). Selon la définition microbiologique de terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées.

Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivés dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place [22].

2- Types de résistance aux antibiotiques

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) [23].

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 [24];[25].

2-2-1- Les résistances chromosomiques

Elles sont liées à des mutations de l'ADN chromosomique lors de la réplication. La mutation peut porter sur un point quelconque du métabolisme bactérien. Si elle vient à modifier le site d'action de l'antibiotique, ce dernier devient inactif. On parle alors de mutant résistant. Ces mutations chromosomiques sont rares spontanées (se produisent en l'absence de l'antibiotique), spécifiques, héréditaires et réversibles [26].

2-2-2 La résistance par acquisition de gènes

C'est le mécanisme le plus important, les gènes acquis par la bactérie peuvent être un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines. Ces protéines interviennent dans la résistance bactérienne en modifiant la perméabilité à un antibiotique ou en l'inactivant, c'est le cas des enzymes type bêta Lactamase.

La résistance par acquisition de gènes est fréquente, elle peut concerner plusieurs antibiotiques à la fois contrairement à la mutation et elle est transférable d'une bactérie à une autre. Il existe quelques antibiotiques pour lesquels le seul mécanisme de résistance est la

mutation, alors qu'aucune résistance par acquisition de gènes n'a été retrouvée : les Rifamycines, les Quinolones, Polypeptides et les Furanes [27].

3- Mécanismes de résistance bactérienne

Escherichia coli a plusieurs mécanismes de résistance représentés dans la **figure 3** [31].

3-1- Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes

Ce mécanisme est basé sur la destruction d'un antibiotique avant même que celui-ci pénètre la cellule. Il se produit via la sécrétion par la bactérie d'une enzyme capable de détruire des liens chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle du médicament. C'est donc une stratégie offensive par laquelle la bactérie inactive l'antibiotique.

Les bêta-Lactamases sont un exemple d'enzymes produites par les bactéries qui inactivent les B-Lactamines telles les pénicillines et les céphalosporines. D'autres catégories d'enzymes inactivent plus précisément les aminosides ou d'autres antibiotiques, incluant le chloramphénicol et la fosfomycine [28].

3-2- Diminution de perméabilité

Tout changement dans la composition de l'enveloppe cellulaire, qui fait obstacle à l'absorption d'un antibiotique donné, aura pour résultat une augmentation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou l'apparition d'un haut degré de résistance. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action [29].

3-3- Acquisition d'un déterminant de résistance exogène

Des gènes spécifiant une résistance à un ou à plusieurs antibiotiques peuvent être acquises par transformation, conjugaison, transposition, conjugative ou transduction. Dans certains cas, une <<cassette génétique>> codant pour la résistance aux antibiotiques s'insère

par recombinaison localisée dans une séquence spécifique de l'ADN (intégron). Un intégron comprend le site d'insertion et aussi l'intégrase (recombinase) requise [29].

3-4- Pompes (transporteurs) à efflux

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe [30].

3-5- Résistance inductible

Certains antibiotiques quand leur concentration dépasse un certain minimum peuvent induire la résistance dans une cellule bactérienne. Par exemple, chez des bactéries Gram-positives (dont les *Staphylocoques*, la présence de chloramphénicol induit le chloramphénicol acétyltransphérase, une enzyme qui catalyse l'acétylation (d'où l'inactivation de l'antibiotique) [29].

3-6- Altération (ou modification) des sites de liaison

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance.

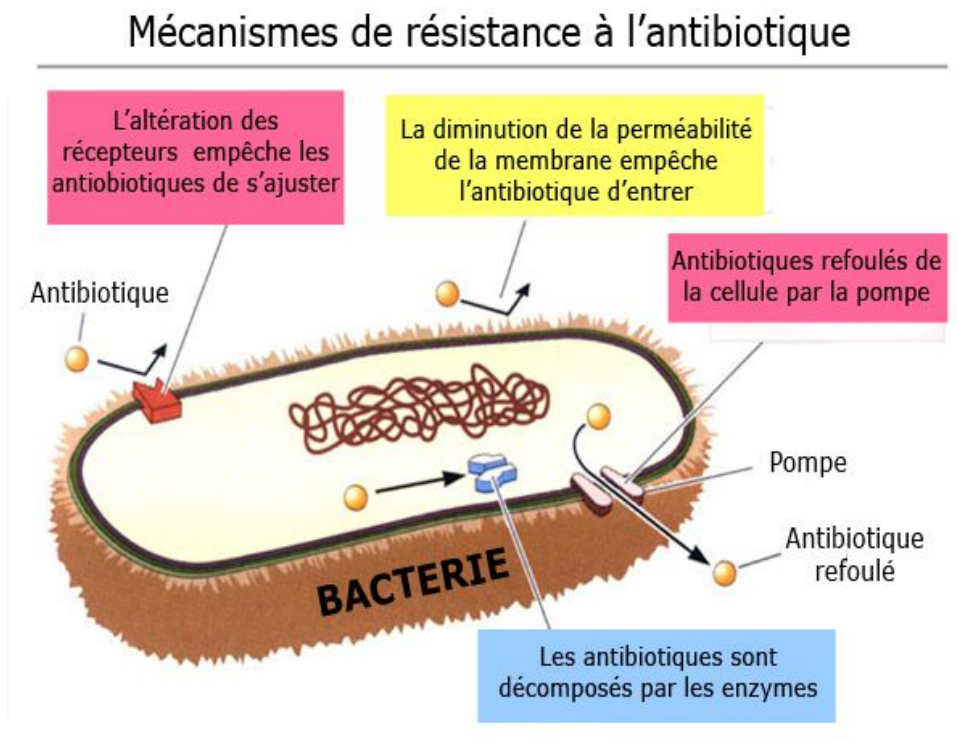


Figure 3 : Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques [31].

4- Multirésistance

La multirésistance bactérienne résulte de l'accumulation de résistance à un nombre important d'antibiotiques appartenant à des familles variées. Les deux sens les plus communément acceptés de la multirésistance bactérienne tournent autour de bactéries qui sont résistantes à de nombreux antibiotiques ou qui sont résistantes beaucoup plus d'antibiotiques que la résistance du phénotype sauvage ne le laissait prévoir.

On voit que le premier concept s'adapte bien aux bactéries pour les quelles on parle de résistance naturelle. Ce sont celles qui ont, de tout temps et en tout lieu, été résistantes à de nombreux antibiotiques. Le deuxième des concepts énoncés plus haut s'adapte bien aux bactéries dont le phénotype de résistance s'est modifié de façon importante au cours du temps, celles pour lesquelles on parle de résistance acquise [32].

5- Antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode de travail microbiologique, utilisant un milieu gélose spécifique en boîte de pétri et des disques imprégnés d'antibiotiques à des concentrations déterminés. Cette méthode permet d'évaluer la sensibilité d'une bactérie pathogène vis-à-vis d'antibiotiques choisis en fonction des indications cliniques fournies et de la prévalence de la résistance acquise.

En mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques et en consultant les tableaux << de concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative >> pour des familles ou des genres bactériens déterminés, on peut savoir si, pour ces antibiotiques testés, une souche bactérienne est sensible, intermédiaire ou résistante. La mesure du diamètre d'inhibition représente la valeur de la CMI de l'antibiotique [33].



Antibiotiques

Chapitre III : Les antibiotiques

1- Définition et historique

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie) ou de synthèse chimique qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes. Les antibiotiques n'ont pas d'activité contre les virus [34].

Dés 1877, Pasteur et Goubert avaient remarqué que certaines moisissures élaboraient des substances empêchant le développement d'autres champignons. En 1928, Fleming montra que le champignon *Penicillium notatum* produisait une substance bactériostatique agissant sur de nombreux microbes et inhibait le développement des bactéries : il venait de découvrir la pénicilline. De 1939 à 1945, les applications thérapeutiques de la pénicilline et sa préparation industrielle ont été étudiées par Chain et Florey, qui mirent en valeur son antibiotique.

À la suite de la découverte de Fleming, de nombreux chercheurs étudièrent les produits de sécrétion d'un grand nombre de champignons, obtenant ainsi des antibiotiques nouveaux. Puis, la constitution chimique des antibiotiques ayant été définie, en remplaçant certains atomes dans les formules par des radicaux plus ou moins complexes. En constituant ainsi les antibiotiques hémi-synthétiques. Ultérieurement, on a obtenu des antibiotiques de synthèse totale. Enfin, on peut faire fabriquer des antibiotiques par certaines bactéries après modifications génétiques [35].

2-Types d'antibiotiques

Élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique) [37].

-Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes : champignons (Pénicilline, Céphalosporine) ou bactéries (Streptomycine, Chloramphénicol, Polypeptides).

-Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique : Sulfamide, Acides nalidixiques.

- Les antibiotiques semi-synthétiques : ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

3-Effets des antibiotiques

3-1- Antibiotique bactériostatique

Quand il inhibe seulement la croissance et la multiplication des bactéries : l'infection ne sera finalement vaincue que par les défenses naturelles de l'organisme.

3-2- Antibiotique bactéricide

Quand il détruit les germes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre : plus un antibiotique détruit des types différents de bactéries, plus son spectre est large [38].

3-2-1- Antibiotique à spectre large

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un grand nombre de types de germes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie de tous les cocci et de tous les bacilles. Les bacilles Gram- sont les plus nombreux. D'une manière indirecte, un spectre large est forcément actif sur les bacilles Gram-. Les antibiotiques à spectre large seront utilisés lorsque le germe n'est pas identifié et que la pathologie peut être due à différents types de germes.

3-2-2- Antibiotique à spectre étroit

Il s'agit d'un antibiotique efficace sur un nombre limité de types de germes. Cette spécificité lui permet ainsi de cibler un germe est une pathologie.

3-2-3- Antibiotique à spectre moyen ou limité

Il s'agit d'un antibiotique dont l'efficacité est réduite ou partielle sur un groupe de germes. Il concerne aussi un spectre anciennement large et réduit par l'apparition de résistance bactérienne [36].

4-Mode d'action des antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des micro-organismes, le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries et n'a pas d'équivalent chez les eucaryotes et en particulier chez l'homme, ainsi idéalement l'antibiotique tue ou bloque la multiplication des bactéries mais n'a pas d'impact sur les cellules du patient traité [37].

4-1- Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi, qui doit croître quand la bactérie se divise, cette paroi contient en particulier une couche de peptidoglycane plus ou moins épaisse. La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpéptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes Gram positif.

Les micro-organismes vivant généralement dans un environnement osmotiquement hostile, et ce qui avec une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclater ou se lyser. Les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule [37];[39].

4-2- Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique

Il existe un certain nombre de molécules antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules. Ces molécules sont essentiellement des détergents (ou surfactants) qui

désorganisent la bicouche phospholipidique membranaire, provoquant une fuite des composés hydrosolubles du cytosol et la mort de la bactérie ; la polymyxine en est un exemple [37];[40].

4-3- Antibiotiques qui effectuant une inhibition de la synthèse protéique

C'est le cas par exemple des tétracyclines, aminosides, chloramphénicol, macrolides, acide fucidique, linézolide. Ceux-ci se fixent sur des constituants spécifiques du ribosome bactérien. Ils empêchent ou gênent la traduction des ARNm (une "copie" d'un gène, destiné à être lu par les ribosomes pour permettre la synthèse d'une protéine) donc la formations de nouvelles protéines [41].

4-4- Antibiotiques inhibant la synthèse ou le fonctionnement des acides nucléiques

Les Rifampicines, Sulfamides, Quinolones et triméthoprime inhibent la synthèse ou même le fonctionnement des acides nucléiques de différentes façons selon les familles d'antibiotiques [41].

-inhibition de la réplication de l'ADN

-inhibition de la transcription/ARN polymérase

-diminution e la synthèse des précurseurs nucléotidiques.

5- Critères de classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur :

5-1- Structure chimique

Plusieurs drogues peuvent avoir en commun le noyau actif, ce qui permet de les réunir dans une même famille.

5-2- Spectre d'action

C'est-à-dire l'ensemble des espèces bactériennes sur lesquels ils sont actifs, permet également de différencier des familles, ou au sein d'une même famille des groupes ou des

sous-groupes d'antibiotiques. Certains d'entre-eux agissent sur de nombreuses espèces bactériennes ; ils sont dits à spectre large, d'autres, par contre, agissent sur un nombre limité ou même sur un seul germe bactérien : ils sont dits à spectre étroit ou à action spécifique.

5-3- Mécanisme d'action

Constitue un troisième critère de classification. En fait, ces trois types de classification sont liés entre eux et de la communauté de structure chimique découle un mécanisme d'action commun et en conséquence un spectre d'activité comparable ou très proche. Il est donc possible d'établir une classification des antibiotiques basée sur ces critères et de définir des familles d'antibiotiques [34].

6- Classification

La classification par familles prend en compte la composition chimique des molécules en relation avec leur mode d'action étudié à l'échelon moléculaire au niveau des différentes structures de la cellule bactérienne. La classification évolue avec l'apparition de nouvelles molécules. Dans chaque famille, la subdivision en groupes est établie selon le spectre bactérien couvert et les propriétés pharmacocinétiques de l'antibiotique. Les tableaux 2, 3, 4,5,6 représentent la classification des antibiotiques selon les trois types de classification[42] ;[43].

Tableau n° 2 : Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane [43].

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
Fosfomycines	Large	Bactéricide	Inhibition de la pyruvyltransférase
Vancomycine	Etroit	Bactéricide	Fixation sur les 2 derniers acides aminés (D-ala) constituant le précurseur de peptidoglycane
Betalactamine	Selon le groupe	Bactériostatique et Bactéricide	Fixation et inhibition des PLP (Protéines Liant les Pénicillines)

Tableau n°3 : Antibiotiques actifs sur les membranes [43].

	Spectre	Type d'action	Cible
Polymixines	BGN	Bactéricide	Altération de la membrane externe

Tableau n°4 : Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques [43].

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
Macrolides	Cocci, &BG+	Bactériostatique	Fixation sur la sous-unité 50S
Aminosides	Inactifs sur les anaérobies	bactéricide	Fixation sur la sous-unité ribosomale 30S
Acide fusidique	Staphylocoques	Bactériostatique à faible & bactéricide à forte dose	Fixation et inhibition des PLP (Protéines Liant les Pénicillines)

Tableau n°5 : Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques [43].

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
Rifampicines	Staphylocoque &mycobactéries	Bactéricide	Inhibition de l'ARN
Quinolones	Large	Bactéricide	Blocage de la synthèse de l'ADN

Tableau n°6 : Classification des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates [43].

	Spectre	Type d'action	Mode d'action
Sulfamides	Entérobactéries Staphylocoques	Isolement Bactériostatique, En association bactéricide	Les sulfamides inhibent la Dihydroptéroate synthétase

7- Les carbapénèmes

7-1- Généralité

La production d'enzymes hydrolytiques est le mécanisme de résistance prédominant vis-à-vis des bêtalactamines chez les bacilles à Gram négatif. Selon la classification d'Ambler, il existe quatre catégories de bêtalactamases : la classe A (pénicillinases de type sérine protéases, inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam) ; la classe B (métallo-enzymes, dont le site actif contient un ion zinc, résistantes à l'acide clavulanique mais inhibées par l'EDTA : Acide Éthylène Diamine Tétra acétique) ; la Classe C (céphalosporinases

insensibles à l'acide clavulanique mais inhibées par la cloxacilline) et la Classe D (oxacillinases hydrolysant la cloxacilline et peu inhibées par l'acide clavulanique).

Les carbapénèmases constituant une famille très composite, définie sur la base d'un spectre enzymatique (hydrolyse d'au moins un carbapénème disponible) et non sur une base structurale. Ces carbapénèmases sont ainsi retrouvées au sein des classes A, B et D d'Ambler [44].

7-2- Définition

Les carbapénèmases sont des B-lactamases ayant une activité hydrolytique vis à vis carbapénèmes. Ces enzymes appartenant à trois classes selon la classification d'Ambler

Classe A

Correspond principalement aux enzymes de type KPC, IMI et GES. Elles ont la particularité de voir leur activité in vitro totalement ou partiellement inhibée par l'acide boronique et l'acide clavulanique. Elles hydrolysent toutes les B-Lactamines.

Classe B

Correspond au métallo-B-lactamases de type VIM, IMP et NDM. Ces enzymes hydrolysent très fortement toutes les B-lactamines à l'exception de l'aztréonam. Leur activité in vitro n'est pas affectée par les inhibiteurs suicides de B-lactamases (acide clavulanique et tazobactam). Ce sont de métallo-enzymes qui contiennent un ion zinc dans leur site actif expliquant l'inhibition de leur activité par l'EDTA (chélateur des cations divalents) ou l'acide dipicolinique.

Classe D

Correspond essentiellement aux enzymes de type oxacillinases (OXA-48, OXA-163, OXA-181). Ces enzymes hydrolysent fortement les carbapénèmes mais pas ou peu les céphalosporines de 3ème génération. Elles sont résistantes aux inhibiteurs suicides de B-lactamases (acide clavulanique et tazobactam). Toutefois, leur présence est souvent couplée à

la présence d'une B-lactamase à spectre étendu (BLSE), ce qui conduit à une multirésistance des souches sécrétrices [45].

7-3- Test Hodge

Le test de Hodge modifié est la méthode actuellement recommandé par CLSI comme méthode phénotypique générale de détection de la production de carbapénèmases. Elle est basée sur l'inactivation d'une carbapénème par une souche productrice de carbapénémase permettant à une souche contrôle (sensible à l'antibiotique) de prolonger sa croissance vers le disque contenant l'antibiotique, au long de la strie de l'inoculum de la souche testée [46].



Matériels et méthodes

Matériel et Méthodes

1-Matériel

❖ Les souches étudiées

Notre étude a porté sur des souches isolées et identifiées de laboratoire de bactériologie de CHU (Constantine) à partir d'un échantillon d'urine d'un patient qui a subi une infection pour tester la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Nous avons étudié deux souches *d'Escherichia coli* : EC 1 et EC 2. Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université des frères Mentouri Constantine) dont lequel nous avons réalisé des tests microbiologiques (Antibiogramme, Test Hodge) sur les deux souches *d'Escherichia coli*.

2-Méthodologie

2-1-Repiquage des souches

La gélose nutritive fondue est coulée dans trois boîtes de pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4 mm, laisser refroidir jusqu'à solidification, chaque boîte est ensuiteensemencée par une des trois cultures bactérienne tout en utilisant la technique des cadrans par des stries serrées, incubation des boîtes dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C.

2-2-Préparation de Mueller Hinton

Pour préparer le milieu, nous avons pesé 9,5 g de Mueller Hinton déshydraté (voir composition annexe 1), les verser dans un bécher qui contient 250 ml d'eau distillée bien mélanger le liquide avec la spatule puis ajouter l'agitateur magnétique déposer le tout sur la plaque chauffante jusqu'à l'ébullition pendant 1 minute, vider le Becher dans un flacon propre à l'aide d'un entonnoir, fermer le flacon et après stériliser la préparation pendant 15 min/ 120°C à l'autoclave.

2-3-Préparation de l'eau physiologique

Préparer 0,9 g de chlorure de sodium (NaCl) dans 100 ml d'eau distillée, bien mélanger jusqu'à ce que le NaCl dissout puis réaliser une stérilisation à l'autoclave pendant 15 min/120°C.

2-4- Préparation de l'inoculum

Après incubation des souches pendant 24 heures, pour chaque boîte de pétri une à deux colonies ont été prélevé à l'aide d'une pipette pasteur et introduites dans un tube qui contient 5 ml d'eau physiologique puis agiter le tout au Vortex. C'est la méthode de routine la plus utilisée au niveau des hôpitaux. Comme il existe un appareil pour ajuster l'inoculum à 0.5 MF et un étalon pour la comparaison.

2-5-Antibiogramme

Nous avons testé la sensibilité de deux souches EC 1, EC 2 vis-à-vis des différents antibiotiques par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton, dans ce test nous avons utilisé comme antibiotiques :

Amoxicilline, Amoxicilline+AC clavulanique, Piperacilline+tazobactame, Cefazoline, Cefepime, Cefoxitine, Cefotaxime, Ceftazidime, Aztreoname, Ertapeneme, Imipenème, Amikacine, Acide Nalidixique, Gentamicine, Ciprofloxacine, Colistine.

Mode opératoire

Couler le Mueller Hinton fondu dans 8 boîtes de pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4mm, laisser refroidir jusqu'à solidification, verser 5 gouttes de chaque suspension bactérienne (EC1 EC2) dans 4 boîtes de pétri ensuite étaler toute la surface à l'aide d'une pipette râteau , puis déposer délicatement dans chaque boîte 4 antibiotiques avec une pince flambée en appuyant doucement sur chaque disque d'antibiotique pour assurer un contact uniforme avec le milieu, puis incubé 24 heures à 37 °C.

2-6-Test Hodge

Le test Hodge (HT) est très utilisé comme méthode phénotypique générale qui permet la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénèmases (souches à tester) et souche sauvage de référence sensible.

❖ Mode opératoire

Couler le Mueller Hinton fondu dans une boîte de pétrie de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4mm, laisser refroidir jusqu'à solidification, tremper l'écouvillon légèrement dans la suspension bactérienne sensible puis étaler toute la surface du milieu gélosé. Ensuite un disque d'Ertapeneme chargé à 10 µg est déposé au centre de la boîte et une colonie de chaque souche testée (EC1 EC2) est ensemencée de manière radiale à partir du disque jusqu'au bord de la boîte de pétri, puis la boîte est incubée pendant 24 heures à 37°C.



Résultats et discussions

Résultats

❖ Antibiogramme

La sensibilité des bactéries tests aux 16 antibiotiques utilisés a donné les résultats présentés dans le tableau 7. Les diamètres des zones d'inhibition ont été déterminés et interprétés selon les indications du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CACFM 2012).

Parmi ces 16 antibiotiques les deux souches sont résistantes aux antibiotiques de la famille des beta-lactamines qui sont : l'Amoxicilline, Amoxicilline + AC Clavulanique, Piperacilline+tazobactame, Cefazoline, Cefoxitine, Cefotaxime, Ceftazidime, Aztreoname, Ertapeneme, de plus elles résistent à l'Amikacine et la Gentamicine qui appartiennent à la famille des aminosides et à l'Acide nalidixique et la Ciprofloxacine de la famille des quinolones, comme ces deux souches montrent une sensibilité à la Imipénème de la famille des beta-lactamines ainsi que la Colistine de la famille des polymyxines, la différence entre les deux souches c'est que la souche EC2 représente une sensibilité à la Cefipime de la famille des quinolones par contre la souche EC1 représente une résistance au même antibiotique.

Tableau n°7 : profile de résistance des souches résistantes à l'Ertapeneme productrices de carbapénémases.

Souches	Phénotype de résistance	Phénotype de sensibilité
EC1	AX, AMC, TPZ, CFZ, CFPM, FOX, CTX, CAZ, ATM, ERT, AMK, NAL, GN, CIP	IPM, CT
EC2	AX, AMC, TPZ, CFZ, FOX CTX, CAZ, ATM, ERT, AMK, NAL, GN, CIP	IPM, CT, CFPM

AX : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline+AC clavulanique, **TPZ** : Piperacilline+tazobactame, **CFZ** : Cefazoline, **CFPM** : Cefepime, **FOX** : Cefoxitine, **CTX** : Cefotaxime, **CAZ** : Ceftazidime, **ATM** : Aztreoname, **ERT** : Ertapeneme, **IPM** : Imipeneme, **AMK** : Amikacine, **NAL** : Acide Nalidixique, **GN** : Gentamicine, **CIP** : Ciprofloxacine, **CT** : Colistine

❖ Test Hodge

La **figure 4** montre qu'il y a une déformation de la zone d'inhibition de la souche référence (sensible) cela est révélé par une incurvation du cercle qui se traduit par une croissance des deux souches résistantes le long d'une strie jusqu'au disque d'antibiotique.

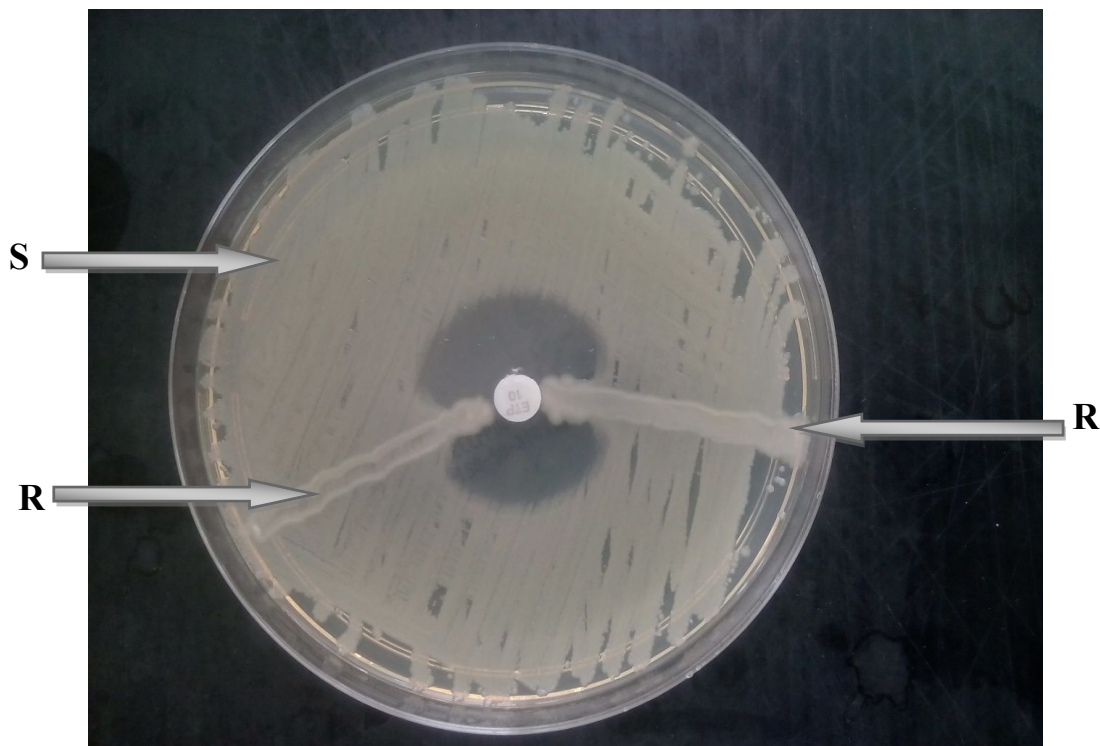


Figure n°4 : Teste de Hodge positif avec des souches d'*E. coli*

S : souche sensible

R : souche résistante

Discussion

Nous avons travaillé sur deux souches d'*E. Coli* multirésistante isolées d'un prélèvement clinique et identifiée à l'hôpital universitaire de Constantine afin d'étudier le phénotype de résistance de ces deux souches.

Pour cela, un antibiogramme a été réalisé pour tester la sensibilité aux antibiotiques suivie d'un teste Hodge pour la révélation de la présence de Carbapénèmases.

Les résultats ont montré que nos souches étaient résistantes aux antibiotiques appliqués à savoir les Beta-lactamines, les aminosides, les quinolones, et l'Ertapeneme, par contre elles étaient sensibles à l'Imipenème et à la Colistine ce qui souligne la nature multirésistante des isolats inclus dans l'étude.

La résistance aux beta-lactamines implique que ces deux souches sont productrices des beta-lactamases qui inactivent ces antibiotiques par hydrolyse du noyau beta-lactame, ces résultats sont en accord avec ceux de Benabdallah-Khodja et Hamlaoui (2016) qui ont montré cette résistance aux beta-lactamines [18].

Nos souches testées présentent une résistance à l'Ertapeneme, ce résultat corrobore parfaitement avec celui de Benabdallah-Khodja et Hamlaoui(2016), et de Dr Laurent DORTET et al (2016), contrairement à celui de François Caron(2010) qui a montré une sensibilité à cette antibiotique [18];[47];[51].

Concernant les aminosides et les quinolones les deux souches sont résistantes à ces antibiotique ce qui est confirmé par le résultat de Meskine et Benabdelkader (2016) qui ont révélé également une résistance à ces antibiotiques [48].

Pour l'Imipenème les résultats montrent une sensibilité à cet antibiotique, Boukhemis et Boutersa (2015) ont trouvé également cette sensibilité à l'Imipenème ce qui est conforme à notre résultat [49].

En ce qui concerne la Colistine les deux souches étaient sensibles à cet antibiotique ce qui est en accord avec le résultat de Meskine et Benabdelkader (2016) qui ont obtenus un résultat similaire [48].

Le résultat de test Hodge était positif ce qui est conforme avec celui de Ghita (2013), la résistance des souches vis-à-vis l'Ertapeneme dûe à la présence des carbapénèmases [50].

Ce test est sensible pour la détection de carbapénèmases, mais nous fourni pas d'information sur le type de carbapénémase mise en cause.

A notée également que depuis 2012, des souches d'*E. Coli* productrices des carbapénémase OXA-48 sont de plus en plus fréquemment rencontrées dans la flore commensale et dans les urines de patients non hospitalisé.

Donc Nous avons pensé qu'il s'agit de l'enzyme OXA-48 cette supposition doit être confirmé par des méthodes moléculaires (PCR, Séquençage) [52].



Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

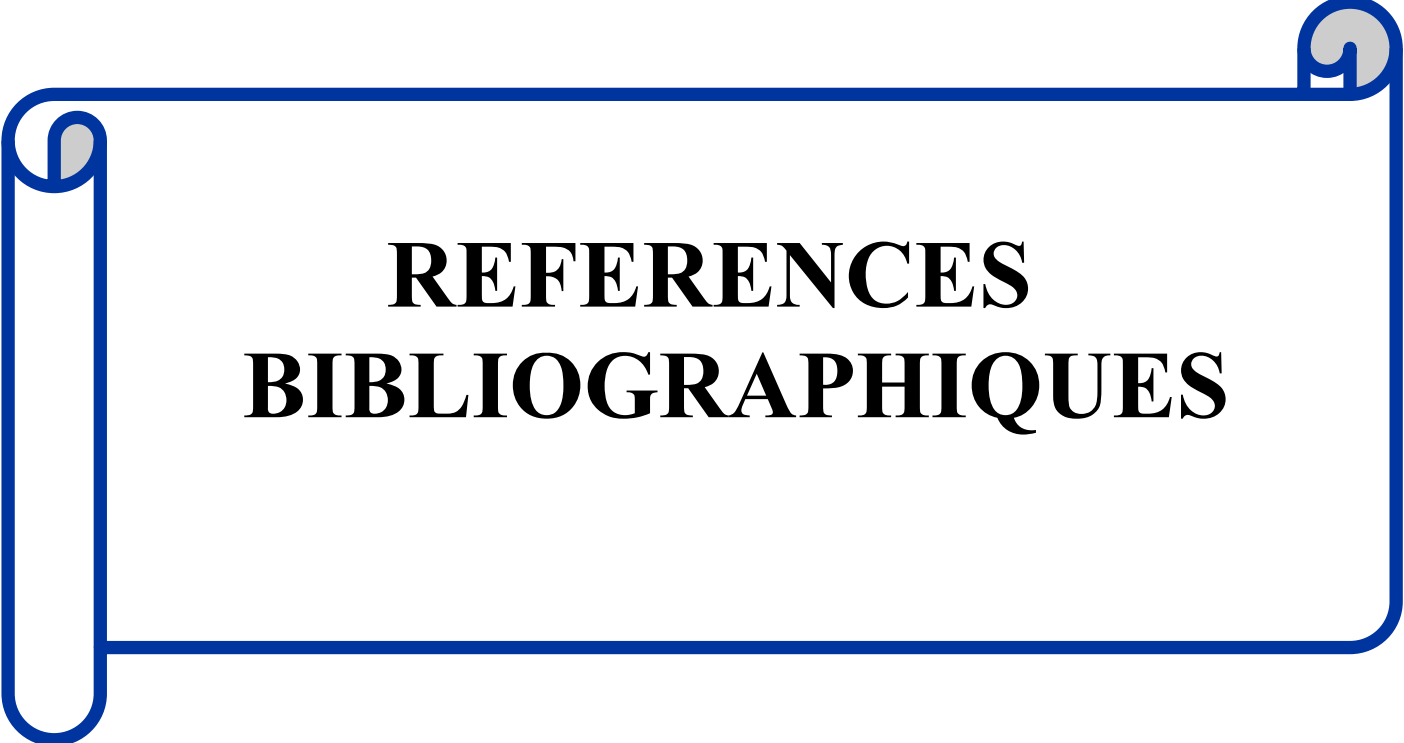
L'antibiorésistance représente un problème majeur de santé publique, l'utilisation peu contrôlée d'antibiotiques à large spectre a favorisé l'émergence de bactéries très résistantes qui placent le traitement de certaines infections dans de véritables impasses thérapeutiques. La résistance aux antibiotiques touche toutes les familles d'antibiotiques elle réside dans la faculté de certains micro-organismes à survivre et se développer en présence d'un antimicrobien en dose généralement suffisante pour inhiber ou tuer des micro-organismes de la même espèce.

De nos jours, la situation la plus grave qui se pose est que certaines souches bactériennes ont développée une résistance vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques, le problème de la résistance aux antimicrobiens a été encore exacerbé par le phénomène de multi résistance de certaines bactéries qui peut limiter l'efficacité de diverses familles d'antimicrobiens. Les échanges entre les bactéries sont nombreux et pas seulement au sein d'une même espèce. Dans certaines situations, une bactérie peut acquérir en une seule fois plusieurs gènes codant pour des résistances, envers différentes familles d'antibiotiques, ce qui accélère d'autant plus la propagation de résistance antimicrobienne.

Dans notre travail nous nous sommes concentrées sur deux souches *d'Escherichia coli* pour lesquelles nous avons réalisé un antibiogramme pour tester la sensibilité de ces deux souches aux antibiotiques comme nous avons détecté le phénotype de la résistance par le test Hodge.

Notre résultat révèle une résistance à l'Ertapenème pour les deux souches testées cette résistance est due à une activité enzymatique des carbapénèmases qui rend l'antibiotique inactif par l'hydrolyse de son noyau beta-lactame cela se traduit par un résultat positif de test Hodge.

Conscience de leur entrée en milieu hospitalier, les producteurs carbapénèmases représentent une nouvelle menace majeure pour la santé publique. Ces souches nécessitent d'être rapidement et efficacement détectées afin de prendre au plus vite les mesures préventives et thérapeutiques appropriées vis-à-vis des patients qui les hébergent. Leur détection peut parfois se révéler difficile, mais les nouvelles techniques de biologie moléculaire sont des outils puissants et robustes permettant leur détection et leur identification.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- 01-** liazid A. (2012). Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du CHU de Tlemcen. Mémoire. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. 95 P.
- 02-** faure S. (2009).transfère d'un gène de résistance aux B-lactamines blaCTX-M-9 entre salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humain. Thèse de doctorat. Université de renne 1 faculté de science de la vie et de l'environnement.184 P.
- 03-** Gangoue pieboji J. (2007). Caractérisation des bêtalactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thésé de doctorat. Université de liège.104 P.
- 04-**Vallée M. (2015). Résistance aux β –lactamines à large spectre chez les bactéries à Gram négatif. Mémoire. Université Laval. 113 P.
- 05-** El brahmi redouane M. (2013). Profile épidémiologique et de résistance des bactéries multirésistantes aux CHU hassanII de Fès .thèse de doctorat. Université sidi Mohammed ben Abdallah faculté de médecine et de pharmacie Fès. 111 P.
- 06-**Riethmuller J. (2013). La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg faculté de pharmacie.160 P.
- 07-**Wolff M., Joly-guillou M.L., Pajot O. (2009). Les carbapénèmes. [En ligne]. <http://cclinest.fr/IMG/pdf/nordmann.pdf>. (Consulté le 15/05/2017).
- 8-**Delphine D (2008). Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l'adaptation d'une souche d'*Escherichia coli a la mamelle bovine*. *Thèse de doctorat. Nancy-Université Institue Nationale Polytechnique de Lorraine* .251 P.
- 9-**Ari R., Sezonov G. (2008) .Les organismes modèles : biologie et génétique d'*Escherichia coli*. Belin. Paris P11.
- 10-**Haouzi R. (2013). Etude biologique des effets des microondes sur *Escherichia coli*. Mémoire. Université des sciences et de la technologie d'Oron Mohamed Boudiaf. 60 P.
- 11-**Bershe P., Gaillart J.L., Simonet M. (2007).Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Paris P 248.

- 12-**Cristian C. (2008). Microbiologie hygiène Bases microbiologiques de la diététique. Lavoisier. Paris. P 79.
- 13-**Eudier J.P. (2011). La bactérie *Escherichia coli*. [En ligne]. <http://www.sylviesimonrevelations.com/article-la-bacterie-escherichia-coli-par-le-dr-jean-pierre-eudier-76675319.html>. (Consulté le 17/03/2017).
- 14-**Prodhomme A. (2008). Sensibilité diminuée d'*Escherichia coli* aux céphalosporines de 3^{ème} génération : étude génétique et corrélation avec l'utilisation des β -lactamines en thérapeutique. Thèse de doctorat. Université de Nantes faculté de pharmacie. 90 P.
- 15-** Soumaila G.A. (2012).Caractérisation phénotypique et génétique des *Escirichia coli* isolés des cas de colibacillooses aviaires au Sénégal. Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de Dakar. 79 P.
- 16-** Bey F. (2009). Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus* sp et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire. Université d'Oran Es-Senia. 109 P.
- 17-**Hart T., Shears P. (1999).Atlas de poche de microbiologie. Flammarion Médecine-Science. Paris. P 118.
- 18-** Benabdallah-Khodja A., Hamlaoui Y. (2016). Étude phénotypique de quelques souches d'*Escherichia coli* productrices des carbapénèmases. Mémoire. Université des frères Mentouri Constantine. 41 P.
- 19-** 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. 76 P.
- 20-** Nauciel C., Vildé J.L. (2007). Bactériologie médicale. Elsevier Masson SAS .P 122-123.
- 21-** Breche P., Gaillard J.L., Simonet M. (1988). Les bactéries des infections humaines. Paris. médecine-science. P 105.
- 22-** Muylaert A., Mainil J.G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur Contagiosité. [En ligne].

<https://www.yumpu.com/fr/document/view/16241626/obtenir-le-pdf-jm2004-universite-de-liege>. (Consulté le 21/03/2017).

23-Lazoul K., Rahi I. (2014). Etude des mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques dans la région de Touggourt. Mémoire. Université kasdi Merbah Ouargla. 66 P.

24-Lozniewskai A., Rabaud N. (2010).résistance bactérienne aux antibiotiques.[en ligne]. (http://nosobase.chulyon.fr/recommandations/cclin_arlin/cclinSudEst/2010_ResistanceAntibiotiques_CClinSE.pdf). (Consulté le 21/03/2017).

25- 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. 104 P.

26-Pebret F. (2003). Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officielles des études médicales paramédicales. Heurs de France. France. P 65.

27-Mahfoud M. (2015). Résistance bactérienne aux antibiotiques. [En ligne]. http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bacterio09-resistance_sensibilite_atb. (Consulté le 21/03/2017).

28-Véronique f. (2003). La résistance bactérienne aux antibiotiques. [En ligne]. classeur.pistes.org/chantier/theme/292/resistance_-_document_d_information.doc. (Consulté le 22-03-2017).

29-Courvalin P., Leclercq R., Bingen E. (2006). Antibiogramme. ESKA. Paris P 465.

30- Sylvie C. (2009). Résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important. *Journal de Pharmactuelle*. **42** :12.

31- Haubruge E. (2008). Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques. http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/antibiotiques-contre-bacteries?part=3>. (Consulté le 22/03/2017).

32- Hygis N. (1998). Hygiène Hospitalière. Presses universitaires. Lion. P 103-104.

33-Delarras C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier. France. P 725.

- 34-Boulahbal F. microbiologie s1 clinique .Ben aknoun (Alger).office des publications universitaires. P 126.
- 35-Institut de l'élevage 4ème édition. (2008). Les maladies des bovins. France agricole. France. P 664.
- 36-Stora D. (2013). Pharmacologie et thérapeutique 2e édition. Lamarre. France. P 90- 91.
- 37-Ghouli A., Senoussi A. (2015).activité biologique des diazépines synthétisés du phosphore florique. Mémoire. Université Kasdi Merbah Ouargla. 49 P.
- 38-Collin B. (1992). Petit dictionnaire de la médecine de gibier. Perron. Liège. P 36.
- 39-Sedrati A. (2014). Étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à L'EPH d'Ouargla. Mémoire. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 44 P.
- 40- Clos j. (2012). L'immunité chez les animaux et les végétaux. Lavoisier. France. P 72.
- 41-Brienne P., Gayton E., Mounier M. (2014). Le mode d'action des antibiotiques. [En ligne]. <http://www.antibiotique.eu/le-mode-daction.html>. (Consulté le 24-03-2017).
- 42- Gazengel J.M., Orecchioni A.M. (2013).Le préparateur en pharmacie. Lavoisier. France. P 334.
- 43- Bennani M. (2014). Recherche d'entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet fin d'étude. Institut pasteur : Sidi Mohamed ben Abdallah. 31 P.
- 44- Achkour Z. (2012). Émergence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif. Thèse de doctorat. Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie. 130 P.
- 45-Boutet-Dubois A., Pantel A., Sotto A., Lavigne J.P. (2012).les entérobactéries productrices des carbapénèmases. [En ligne]. cclin-sudest.chu-lyon.fr/Newsletter/2012/02/articles/EPC.pdf. (Consulté le 28.03.2017).

- 46-** Vallée M. (2015). Résistance aux Bêtalactamases à large spectre chez les bactéries à Gram négatif. Mémoire. Université Laval. 113 P.
- 47-** Caron F. (2010). Pris en charge des infections à Coli bacilles BLSE en ville pris en charge hospitalière des Coli bacilles BLSE. [en ligne]. http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/prise_en_charge_des_infections_a_colibacille_BLSE.pdf. (Consulté le 19/05/2017).
- 48-** Meskine A., Benabdlkader L. (2016). Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques des souches isolées du milieu hospitalier. Mémoire. Université Mentouri Constantine. 53P.
- 49-** Boukhemis A., Boutersa A. (2015). Identification et antibiorésistance de souches d'*Escherichia coli* et de *klebsiella pneumoniae* des infections urinaire à l'aide des moyens classique et des moyens automatisés. Université des frères Mentouri Constantine. 54 P.
- 50-** Ghita Y. (2013). Les entérobactéries productrices de carbapénémase : étude prospective. Mémoire. Université sidi Mohammed Ben Abdallah. 49 P.
- 51-** Dortet L., Cuzon G., Naas Th. (2016). Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase. [En ligne]. www.cclin-arlin.fr/nosobase/recommandations/2016_DetectionEPC_CNR.pdf. (Consulté le 20/05/2017).
- 52-** Glupezynski Y. (2012). Évaluation externe de la qualité des analyses en biologie clinique. [enligne]. http://www.nsih.be/download/MDR/CPE_SURV/Qual_laboversion%202%20R%E9sum%E9%20EQA%20CPE%202012_YG22012013.pdf. (Consulté le 20/05/2017).



Les annexes

Annexe 1 : Composition des Milieux

1-Gélose Nutritive

-Extrais de viande : 1g/L

-Extrais de levure : 2.5g/L

-peptone : 5g/L

-Chlorure de sodium : 5g/L

-Agar : 15g/L

-Ph : 7.

2-Gélose Mueller Hinton

- Infusion de viande de bœuf : 300ml

-Peptone de caséine : 17.5g

-Amidon de maïs : 1.5g

-Agar : 17g

-Ph : 7.4.

Annexe 2 : matériels utilisés

1- Milieux de cultures et produits

-Gélose nutritive

-Mueller Hinton

-Eau physiologique

-Eau distillée

-Disques d'antibiotiques.

2-Appareillage

-Balance

-Etuve

-Plaque chauffante

-Bain Mari

-Agitateur Vortex

-Autoclave.

3-Instruments

-Bécher

-Pipette pasteur

-Tube à essais

-Boîtes de pétrie

-Pince stérile

-Règle graduée

-Ecouvillon.

**THEME : ETUDE PHÉNOTYPIQUE DES SOUCHES *D'ESCHERICHIA COLI*
MULTIRÉSISTANTES ISOLÉES DE CHU CONSTANTINE**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et
Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

La résistance des bactéries à Gram négatif aux carbapénèmes constitue une menace de santé publique majeure à l'échelle mondiale. L'objectif de cette étude était d'étudier le phénotype de résistance de deux souches d'*Escherichia coli* multirésistantes (EC1, EC2) qui ont été isolées et identifiées à l'hôpital universitaire de Constantine (CHU), la sensibilité aux antimicrobiens a été déterminée à l'aide de la méthode de diffusion des disques sur le milieu gélosé Mueller Hinton. Comme résultats obtenus les deux souches de *E. coli* étaient résistantes à l'Ertapenème elles ont présentés un haut niveau de résistance aux beta-lactamines ainsi une résistance aux aminosides et aux quinolones, cependant elles étaient sensibles à l'imipénème et à la colistine. L'activité de la carbapénémase a été étudiée en utilisant un test Hodge, cette activité enzymatique est révélée par la déformation du cercle de la zone d'inhibition par la croissance des deux souches jusqu'au disque d'antibiotique nos résultats nous ont permis de déterminer le phénotype de la résistance par la présence des carbapénémases chez les deux souches testées. Seules les méthodes moléculaires (PCR, Séquençage) permettent, à l'heure actuelle, de caractériser de façon précise les enzymes produites. Ces méthodes sont réalisées en routine dans certains laboratoires cliniques spécialisés ou non, pour palier aux problèmes de la détection phénotypique des micro-organismes producteurs de carbapénémase.

Mots clés : *E. coli*, Antibiotiques, Résistance, Carbapénémases.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Mentouri constantine)

Jury d'évaluation :

Présidente du jury :	Melle Abdelaziz W.	MAA-UFM Constantine
Rapporteur :	Melle Meziani M.	MAA-UFM Constantine
Examinatrice :	Melle Belmassikh A.	MAA-UFM Constantine

Date de soutenance : 07/06/2017