

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département Microbiologie

قسم ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie Microbienne

N° d'ordre :

N° de Série :

Intitulé

---

## **Etude phénotypique des souches *Escherichia Coli* multi-résistantes**

---

Présenté et soutenu par: Achi Sarah

Le 19/06/2018

Lalouatni Borhane

Jury d'évaluation :

Président : Mlle Abdelaziz W. MAA-UFM Constantine

Encadreur : Mlle Meziani M. MAA-UFM Constantine

Examineur : Mlle Almi H. MCB-UFM Constantine

Année Universitaire

2017 – 2018

# *Remerciements*

*Au terme de ce travail, Nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude en premier lieu au le centre hospitalo-universitaire (Constantine) « pour son acceptation afin de réaliser ce travail*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice et directrice de mémoire : Melle Meziani Meriem Maitre Assistante Classe A Université des Frères Mentouri Constantine 1*

*Pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous la remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'elle a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.*

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

*Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect. Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Almi Hiba pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail*

*Enfin merci À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.*

*Merci à vous tous*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes chers parents, qui ont consacré leur existence à bâtir la mienne, pour leur soutien, patience et soucis de tendresse et d'affection pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.*

*À ma chère mère, qui m'a encouragé durant toutes mes études et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu. Qu'elle trouve ici mon amour et mon affection.*

*À mon cher père, qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect. Vous êtes pour moi un sujet de fierté.*

*À mes chères sœurs : Wafa, Hanane, Meriem et Douàa, à mon cher frère Hafid, ceux qui m'ont soutenu avec leur amour, Dieu vous accorde une longue vie pleine de bonheur.*

*À mes chères amies : Talina, Bibèch, Joy, Maya, Khaoula, Inès et Imène, je vous porte dans mon esprit, dans mon âme et dans mon cœur, merci pour les plus beaux moments qu'on a vécu ensemble, je vous aime très fort.*

***Sarah***

# *Dédicaces*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, je peux réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*A ma chère grand-mère Fatima*

*A mon très cher frère : Adlen*

*A mes très chères sœurs : Zahra, Radja et Asrar.*

*A mes tantes, mes oncles. A toute ma famille Lalouatni, Benlmili*

*A mes très chère amis « Hamza, Med Kamel, Hamada, Akram, Chamss Eddin, Zinou , Abd Rahim et Housseem »*

*A toute ma famille, proche ou éloignée.*

*A mon binôme « Sarah » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille.*

*Sans oublier mes braves amies de la promotion d'Ecologie microbienne.*

**BORHANE**

# TABLE DES MATIERES

<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>Page</b>
INTRODUCTION	01
<b>Chapitre1 : <i>Escherichia coli</i></b>	
1. Généralité sur les entérobactéries	02
2. caractères généraux	02
3. Les caractères bactériologiques	03
4. Classification des entérobactéries	04
5- <i>Escherichia Coli</i>	04
5. 1. Historique Définition et Habitat	04
5.2. Classification	05
5.3. Caractères bactériologiques d'identification	05
5.4. Le pouvoir pathogène	08
5.5. Facteurs de pathogénicité	10
<b>Chapitre 2 : La Résistances bactériennes aux antibiotiques</b>	
1. Définition	12
2. Types de résistance aux antibiotiques	12
3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	15
3.1. Diminution de la perméabilité	15
3.2. Modification du site d'action	15
3.3. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes	15
3.4. Le blocage de la pénétration dans la cellule	15

3.5. Modification de la cible du médicament	16
3.6. L'expulsion du médicament	16
4. La multi résistance	16
5. Antibiogramme	16

### **Chapitre 3 : les antibiotiques**

1. définitions des antibiotiques	18
2. Effet des antibiotiques	18
3. Mode d'action des antibiotiques	19
3.1. Action sur la synthèse de la paroi bactérienne	19
3.2. Action sur la membrane cytoplasmique	19
3.3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	19
3.4. Inhibition de synthèse protéique	19
4. Classification	20
4.1. Les $\beta$ -lactamines	20
4.2. Les aminosides	23
4.3. Les quinolones	24
4.4. Les phénicoles	24
4.5. Les polypeptides	24
4.6. Les tétracyclines	25
4.7. Les rifampicines	25

### **Partie matériel et méthode**

1. Lieu d'étude	26
2. Matériels étudiés	26

3. les souches étudiées	26
4. Méthode de travail	26
4.1. Etude macroscopique	26
4.2. Etude microscopique	27
4.3. L'identification des souches <i>d'Escherichia coli</i>	27
4.4. L'antibiogramme	31

## **Résultat et discussion**

1. Résultats	33
1.1-Etude macroscopique des souches <i>d'Escherichia coli</i>	33
1.2. Etude microscopique	33
1.3. L'identification des souches <i>d'Escherichia coli</i>	34
1.4. L'antibiogramme.	34
2. Discussion	41
2.1. Etude macroscopique sur milieu Hektoen	41
2.2. Etude microscopique	41
2.3. Résultat des tests biochimiques	41
2.4. L'antibiogramme	42
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>45</b>
<b>Référence bibliographiques</b>	<b>46</b>

## **Annexes**

## Liste des abréviations

AMX: Amoxicilline

ATB: Antibiotique

BLSE: Bêta- lactamase à spectre Elargi ou Etendu

BMR : Bactéries multi résistantes

C1G: Céphalosporine de 1ère génération

C2G: Céphalosporine de 2ème génération

C3G: Céphalosporine de 3ème génération

C4G: Céphalosporine de 4ème génération

CAZ: Céftazidime

CIP: Ciprofloxacine

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CS: Colistine

CTX: Céfoxitime

E. coli : *Escherichia coli*

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

FEP: céfepime

FOX: Céfoxitime

FQ: Fluoroquinolones

G: Gentamicine

H: heure

I: Intermédiaire

IMP: Imipénèm

IND: Indole

K: Antigène capsulaire

LPS: Lipopolysaccharides

Mac: Mac Conkey

MF: MAC Farland

Min : Minute

Ml : Millilitre

Mm : Millimètre

O: Antigène capsulaire

PLP : Protéines liant les pénicillines

R: Résistance

S: Sensible

SXT: Sulfamethoxazole + Triméthoprim

TIC: Ticarciline

µg : Microgramme

µm : Micromètre

°C : Degrés Celsius

+ : Caractère positif

- : Caractère négatif

## *Liste des figures*

	<b>Page</b>
<b>Figure 01:</b> la morphologie des Entérobactéries vues au microscope	<b>03</b>
<b>Figure 02:</b> <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique a G X 1000	<b>06</b>
<b>Figure 03:</b> Les différents emplacements d'un antibiotique dans une bactérie	<b>20</b>
<b>Figure 04:</b> Structures de quelques $\beta$ -lactamines	<b>21</b>
<b>Figure 05:</b> Aspect des souches d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Hektoen	<b>33</b>
<b>Figure 06:</b> observation de souche d' <i>Escherichia coli</i> sous microscope optique G x 100	<b>34</b>
<b>Figure 07:</b> Aspect du citrate de Simmons par <i>Escherichia coli</i>	<b>34</b>
<b>Figure 08:</b> aspect de milieu TSI	<b>35</b>
<b>Figure 09:</b> aspect du milieu mannitol mobilité +	<b>36</b>
<b>Figure 10 :</b> test d'uréase négatif	<b>36</b>
<b>Figure 11 :</b> teste de l'indole positif	<b>37</b>
<b>Figure 12 :</b> Antibiogramme des souches d' <i>Escherichia coli</i>	<b>38</b>

## *Liste des tableaux*

	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b> : Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries	<b>04</b>
<b>Tableau 2</b> : La classification d' <i>Escherichia coli</i> selon le Bergey's manual 2012	<b>05</b>
<b>Tableau 3</b> : Quelques caractéristiques biochimiques du genre <i>Escherichia coli</i>	<b>07</b>
<b>Tableau 4</b> : les <i>E. coli</i> à l'origine de pathologies intestinales (diarrhéiques)	<b>09</b>
<b>Tableau 5</b> : le matériel et les milieux utilisés	<b>26</b>
<b>Tableau 6</b> : Mode d'utilisation et lecture du citrate de Simmons	<b>28</b>
<b>Tableau 7</b> : la lecture de l'utilisation des sucres, et la production d'H <sub>2</sub> S et de gaz sur TSI	<b>29</b>
<b>Tableau 8</b> : Test de mannitol mobilité	<b>30</b>
<b>Tableau 9</b> : Le profil de résistance/sensibilité pour les souches <i>d'Escherichia Coli</i>	<b>39</b>

## Résumé

L'importance de la microbiologie n'est plus à prouver, c'est une connaissance approfondie des microorganismes et plus précisément des bactéries. Dans notre recherche on a mis l'accent sur une bactérie à Gram négatif de forme bacillaire où on a identifié et étudié le phénotype de résistance de deux souches d'*E. Coli* multi résistantes, grâce à la méthode diffusion des disques sur le milieu gélosé Mueller Hinton pour mettre évidence la résistance aux bêta-lactamines et aux Aminosides. On a obtenu des souches BLSE a un haut niveau de résistance aux bêta-lactamines et aux Aminosides sauf à l'Imipenème qui est très actif sur les deux souches, cette résistance est expliquée par la production des enzymes responsables de l'inactivation de ces antibiotiques tels que les bêta-lactamases et les carbapénémases ainsi que les enzymes des Aminosides, O-phosphotransférases (APH), nucléodyltransférases (ANT) et N-acétyltransférases (ACC). Une mise à jour d'Antibiogramme pour ce genre de bactérie (BLSE) est nécessaire pour son contrôle afin d'obtenir un meilleur traitement contre les infections urinaires.

**Les mots clé:** *Escherichia Coli*, Multi résistance, Phénotype, Beta lactamine, Aminosite.

## Summary

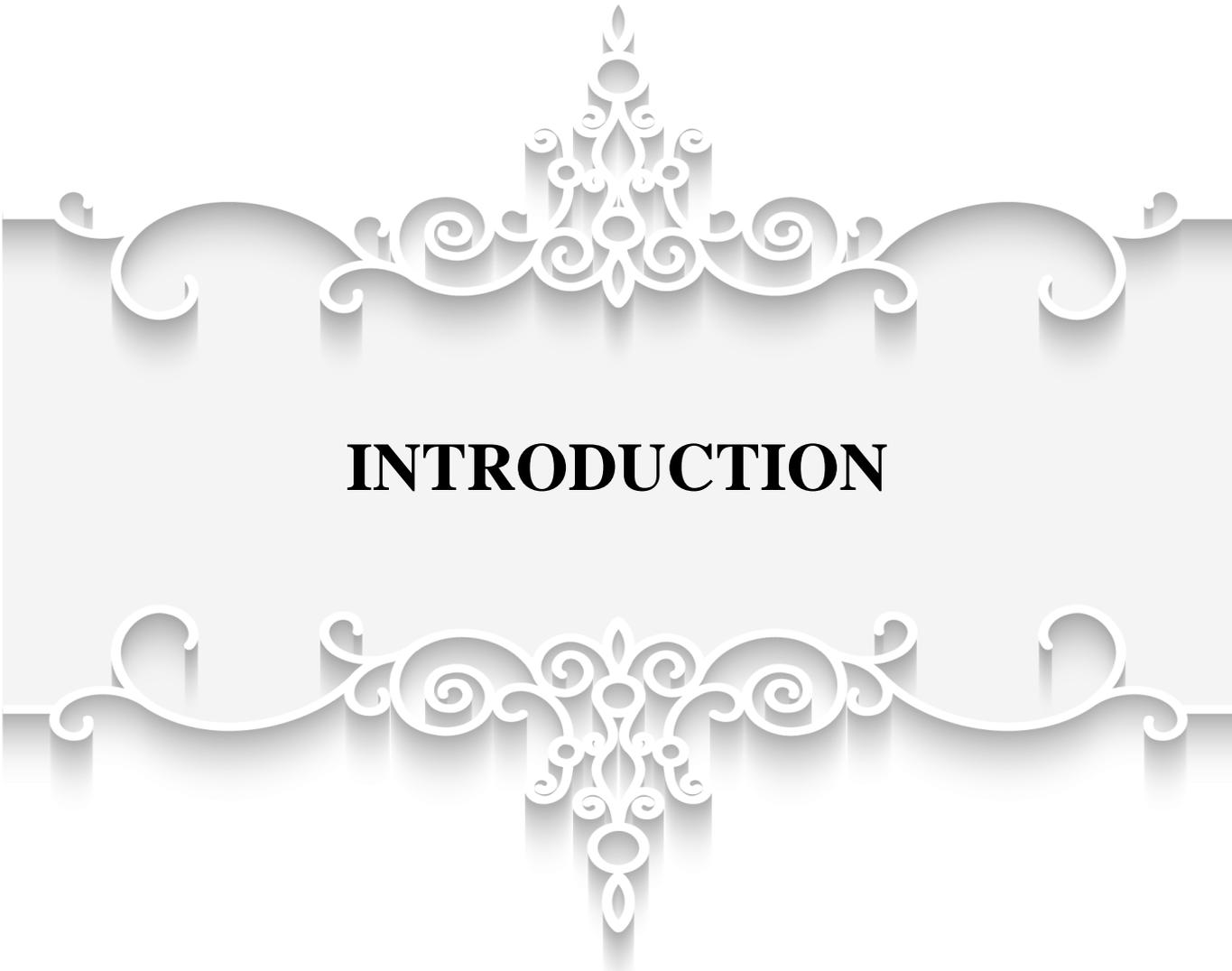
The importance of microbiology is more to prove, it is a thorough knowledge of microorganisms and more specifically bacteria. In our research, we focused on a bacillary Gram-negative bacterium where the resistance phenotype of two strains of *E. coli* was identified and studied. Multi-resistant *coli*, thanks to the diffusion method of the discs on the medium Mueller Hinton agar to put in evidence the resistance to the beta-lactamines and Aminoglycosides. ESBL strains were obtained with a high level of resistance to beta-lactams and aminoglycosides except Imipenem, which is very active on both strains. This resistance is explained by the production of the enzymes responsible for the inactivation of these antibiotics. such as beta-lactamases and carbapenemases as well as Aminoglycoside, O-phosphotransferase (APH), nucleodyltransferase (ANT) and N-acetyltransferase (ACC) enzymes. An Antibigram update for this kind of bacterium (ESBL) is needed for its control in order to obtain a better treatment against urinary tract infections.

**Key words** : *esherichia coli* ; multi-strength ; phenotype ; beta lactam; aminoglycoside.

## ملخص

تكمُن أهمية علم الأحياء المجهرية في المعرفة الدقيقة للأحياء الدقيقة والبكتيريا على المستوى المجهرى. لقد تم التركيز في هذا البحث على سلالتين من البكتيريا سالبية الغرام عصوية الشكل التي تم تحديدها ودراسة النمط الظاهري لمقاومتها وذلك بفضل طريقة نشر الأقراص لتحقيق وجود مقاومة لببتا لاكتام والأمينوزيدات. يتم الحصول على سلالات الـ ESBL التي لديها مستوى عالٍ من مقاومة للببتا لاكتام والأمينوزيدات باستثناء الايميبينام والتي تكون نشطة جدا على مستوى كل السلالات. وتفسر هاته المقاومة المكتسبة بإنتاج أنزيمات مسؤولة عن تعطيل هذه المضادات الحيوية مثل بيتا و اللاكتاماز والكاربابينيماز وأنزيمات الامينوغلوكوزيد ناقلة الفسفات ((nucléodyltransférases (ANT ،APH) و N-acetyltransferases (ACC). هناك حاجة إلى تحديث مضاد حيوي لهذا النوع من البكتيريا (ESBL) من أجل السيطرة عليه وذلك من أجل الحصول على علاج أفضل ضد التهابات المسالك البولية.

**الكلمات المفتاح :** E.coli ; مقاومة متعددة؛ النمط الظاهري؛ بيتا لاكتام؛ امينوغلوكوزيد.

A decorative white scrollwork border with intricate floral and vine patterns, centered on a light gray background. The border is symmetrical and features a central vertical axis with ornate flourishes extending outwards and downwards.

# **INTRODUCTION**

## Introduction

Depuis longtemps, les infections microbiennes occupent la première place dans les pathologies humaines, ils sont dus à l'action d'agents pathogènes qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. En effet, l'examen microbiologique est la meilleure solution pour les identifiés (1).

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bactéries commensales du tube digestif, elles représentent environ 80 % de la flore intestinale aérobies mais certaines souches peuvent être virulentes et provoquent plusieurs infections avec différents signes cliniques (2).

Quelques souches d'*E. Coli* ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'Antibiotique que l'on appelle la multi-résistance, c'est à dire caractérisées par leur résistance aux plusieurs antibiotiques tel que les Aminosides et les  $\beta$ -lactamine qui représentent la principale famille d'Antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde.

Ces  $\beta$ -lactamines à large spectre d'action sont plus utilisées dans le traitement des infections résistantes potentiellement mortelles causées par des bactéries multi-résistantes (3,4).

Parmi les classes d'antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines on trouve les Carbapénèmes qui sont actifs sur la plupart des bacilles à Gram négatif, et sont responsables de la production des enzymes bactériennes les  $\beta$ -lactamases, et les carbapénèmases, qui sont capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame, rendant l'antibiotique inactif avant qu'il n'atteigne les PLP, l'OXA-48est l'une des carbapénèmases les plus récemment décrites (5).

Les aminosides ou aminoglycosides constituent une famille d'antibiotiques actifs sur certains types de bactéries, la plupart sont produits par des bactéries de la famille des actinomycètes, ou en sont dérivés par hémi synthèse (2).

Dans cette optique, notre travail s'est fixé sur les objectifs suivants :

1. Représentation et identification des souches d'*Escherichia Coli* multi-résistance
2. L'étude de leurs profils de résistance aux antibiotiques ( $\beta$  lactamine et les aminosides) par la réalisation d'un antibiogramme.

# **BIOBLIOGRAPHIE**

A decorative white scrollwork border with intricate floral and vine patterns, framing the central text.

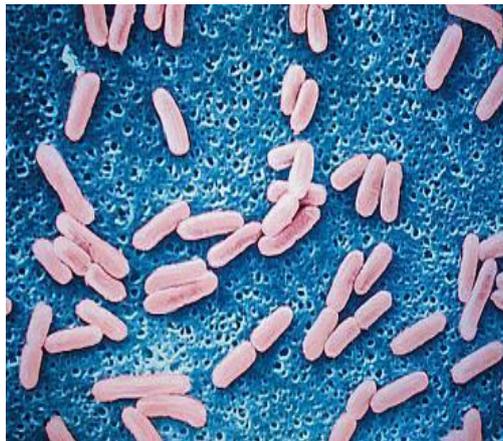
## **Chapitre 1 : *Escherichia Coli***

## 1. Généralité sur les entérobactéries

Les entérobactéries sont des bactéries commensales ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux (6).

Certaines sont des pathogènes obligatoires pouvant provoquer des maladies, d'autres sont des opportunistes, elles ne sont pathogènes qu'en quantité très importante sur fond d'immunodépression, et sont plus impliquées en pathologie humaine infectieuse et responsable d'infection nosocomiale surtout d'infection urinaire, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. Selon leurs espèces ils sont soit parasites (*shigella*) soit commensales (*Escherichia Coli*) soit saprophytes (*entèrobater sp*) (7,8).

Leur famille est très hétérogène contient environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces, la différence entre eux vient de critères plus précis comme la fermentation de différents sucres, la production ou non de sulfure et d'enzymes du métabolisme (désaminase, décarboxylase).



G 594 × 400

Figure 01: la morphologie des Entérobactéries vues au microscope(15).

### 1. caractères généraux

Ils existent 07 caractéristiques communes pour définir des entérobactéries :

- ❖ Ce sont des bacilles à gramme négatif (2à3microns de long sur 0.4 à 0.6 microns de large)
- ❖ Ce sont des immobiles ou mobiles par ciliature pèritriche
- ❖ Ils poussent sur milieu ordinaire (non exigent)

- ❖ Ce sont des Aérobie - anaérobies facultatifs
- ❖ Ils fermentent le glucose avec ou sans production de gaz
- ❖ Ils réduisent le nitrate en nitrite
- ❖ Oxydase négative (9,10).

### **3- Les caractères bactériologiques**

#### **3.1. Les caractères culturaux**

Le développement des entérobactéries est plus rapide sur les milieux ordinaires, ou dans un bouillon, ce sont des germes mésophiles ou neutrophiles (pH optimum voisine de 5.5-8) et leurs températures optimales de croissance 37°C mais la culture est possible entre 20 et 40°C, leurs Temps de division: 20-40mn et Sur gélose: colonies lisses et régulières (11 ,12).

#### **3.2 .les caractères biochimiques**

Pour identifier les entérobactéries, on utilise des tests biochimiques qui étudient le métabolisme protéiques (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose et carbone), la capacité d'utiliser le citrate (comme une seule source de C), la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz (12,13).

#### **3.3. Les caractères antigéniques**

Pour identifier les antigènes des entérobactéries, on utilise plusieurs techniques telles que la agglutination sur lame avec des sérums spécifiques et on trouve tous les antigènes de paroi (somatique ) ou antigènes O au niveau des entérobactéries, certaines possèdent des antigènes de surface tel que les adhésines et les antigènes d'enveloppe ou antigènes K .Alors les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (flagellaire) ou antigène H (14).

### **4. Classification des entérobactéries**

La classification des entérobactéries est regroupée dans le tableau suivant :

**Tableau 1** : Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries(16).

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

## 5-*Escherichia Coli*

### 5. 1. Historique définition et habitat

La bactérie connue sous le nom *Escherichia Coli* a été découverte pour la première fois par le pédiatre Allemand Theodore Escherich, à partir d'un bacille commun dans les selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel appelé *Bacterium coli* commune puis renommée, en 1919 sur proposition, et en 1958 officiellement, *Escherichia Coli* (17,18).

*E. Coli* représente une grande partie de la flore bactérienne intestinal (espèce aérobies dominante :  $10^8$  bactéries par gramme de fèces (flore totale :  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme) .Leur établissements dans le tractus digestif s'effectue durant la première heure après la naissance et reste pendant toute la vie de l'individu. Cependant, certaines souches peuvent être pathogènes et entraînant alors des Gastroentérites, Infections Urinaires, Méningites, ou Septicémie (19, 20).

La présence de cette bactérie dans l'eau et les aliments est un témoin d'une contamination fécale qui la rend impropre à la consommation (recherche des coliformes thermotolérante). Leur présences fournies ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries d'origine digestive (*Salmonella thyphimurium*, *E. coli* O157:H7...) (21).

### 5.2. Classification

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

**Tableau 02** : La classification d'*Escherichia Coli* selon le Bergey's manual 2012 (22).

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

### 5.3. Caractères bactériologiques d'identification

#### 5.3.1. Caractères morphologiques et culturaux

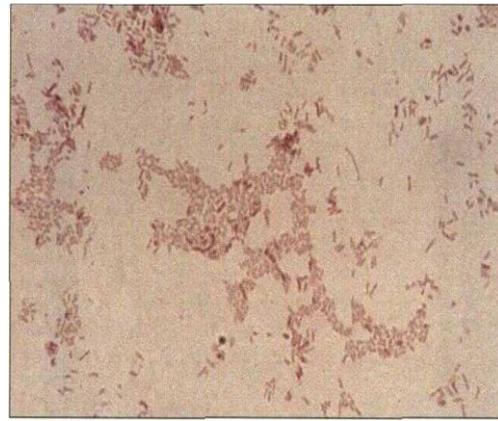
*Les colibacilles* sont des Gram négatives qui ne possèdent pas généralement des capsules. Ce sont des bactéries fines et allongées à extrémités arrondies, mesurant 2 à 4 $\mu$  de longueur sur 0,4 à 0,6  $\mu$  de largeur, leur présence soit isolées ou en courte chaînette, et de temps en temps sous forme de très longs filaments (23).

La culture de ces germes est non exigeante et facile sur milieu ordinaire, elles se développent en 24 heure à 37 °c sur les milieux gélosées en produisant des colonies rondes, lisses, sèches, ombiliqués à bordes régulières, de 2 à 3mm de diamètre non pigmentées sur milieu gélose au sang.

Sur milieu Mac Conkey, les colonies d'*E. Coli* lactose positives sont de forme plate en couleur rose rougeâtre, avec un aspect sec et généralement entourées d'une zone rose plus foncée des selles biliaires précipitées. Par contre, les colonies de *E coli* lactose négatives sont incolores sur Mac (24,25).



E. coli Gro x 1000



E. coli, coloration de Gram (Gro, x 100)

**Figure 02:** *Escherichia Coli* sous microscope électronique (25,26).

### 5.3.2. Caractères biochimiques

Il existe cinq espèces de genre *Escherichia* : *E. coli*, *E. cernosni*, *E. cermannie*, *E. culneries* et une espèce très rare *E. clattae*, et chacune de ces espèces possède des caractères biochimiques spécifiques permettant de les distinguer, tel que le type de fermentation formique, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène ; et aussi l'utilisation du lactose et du citrate(27).

Les principales caractéristiques d' *E coli* se représentent dans le tableau suivant :

**Tableau n°3 :** Quelques caractéristiques biochimiques du genre *Escherichia Coli*(28).

caractéristiques	<i>Escherichia Coli</i>
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+
Voges-proskauer	-
Production d 'indole	+ ( <i>généralement présent</i> )
Utilisation du citrate	-
Production de H <sub>2</sub> S	-

Uréase	-
$\beta$ -galactosidase	+ ( <i>généralement présent</i> )
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	+ ( <i>généralement présent</i> )
Ornithine décarboxylase	+ ( <i>généralement présent</i> )
Mobilité	<i>Péritriches si mobiles</i>
Liquéfaction de la gélatine (22°C)	-

**+ : Caractère positif      - : Caractère négatif**

### 5.3.3-Caractères antigéniques

KAUFMAN a distingué trois variétés d'antigène O, H, K :

- ✓ Antigènes somatique O : sont composés de 150 types antigéniques détectables par l'agglutination
- ✓ L'antigène flagellaire H : au nombre de 56, ils sont difficiles à mettre en évidence et présentes chez les Escherichia Coli mobile
- ✓ Antigènes de surface ou d'enveloppe K : Il existe 3 types d'antigènes K de surface L, A et B
  - L'antigène L : d'enveloppe thermolabile (il est détruit en une demi-heure. à 100 °C). Donc le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O.
  - L'antigène A : c'est un antigène capsulaire. L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
  - 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 (25).

## 5.4. Le pouvoir pathogène

*Les colibacilles* sont des commensaux qui peuvent se transformer en bactéries pathogènes et provoquent plusieurs types d'infections mais aussi des gastro-entérites graves pouvant être mortelles dans certains cas à l'absence du traitement. Elles sont classées dans le groupe des entérobactéries pathogènes spécifiques avec les *Shigelles*, les *Salmonelles* qui sont responsables de dysenteries et fièvres typhoïdes graves.

En effet, ils existent deux types de souches pathogènes d'*E. Coli* :

Les *E. coli* à l'origine de pathologies extra intestinales : urinaire, abdominale, méningées néo-natal et septicémies avec choc septique due à l'endotoxine O.

Les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales (diarrhéiques) ou Entériques sont responsables de gastro entérites infantiles ou des diarrhées des voyageurs (25.29).

### 5.4.1. Les infections urinaires

L'infection urinaire se caractérise par une multiplication des microorganismes au sein de l'arbre urinaire s'accompagnant d'une réaction inflammatoire avec influx de leucocytes, et cette infection peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre et elle se manifeste par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction et parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre. 80% des infections urinaires sont causées par *E. coli* qu'elle soit basse (cystites) ou haute (pyélonéphrites) elle est plus fréquente chez les femmes en raison de la brièveté de l'urètre, la gravité augmente le risque de pyélonéphrites, mais l'infection est secondaire chez l'homme, elle peut se compliquer de prostatite.

### 5.4.2. Les infections intestinales

Certaines souches d'*E. Coli* ont acquis des facteurs de virulence qui les rend pathogènes au niveau intestinal et responsables de gastro-entérites avec diarrhées d'allure banal ou diarrhée sanglante ou diarrhée cholériforme (30).

**Tableau 4** : les *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales (diarrhéiques)

<b>Pathovars</b>	<b>Facteur de virulence</b>	<b>Manifestation clinique</b>
EPEC : Les <i>E. coli</i> entéropathogènes	Lésions d'attachement/effacement (AE)	diarrhées infantiles (enfant moins de 2 ans)
EHEC : Les <i>E. coli</i> entérohémorragiques (ils font partie des STEC ( <i>E. coli</i> productrice de Shiga toxine) les STEC ne sont pas tous pathogènes)	Shiga-like toxine Facteur d'attachement/effacement	colites hémorragiques syndrome hémolytique et urémique SHU
EIEC : Les <i>E. coli</i> entéroinvasifs	Pouvoir invasif (plasmide pLNV)	diarrhée sanglante et purulente (fièvre élevée).
ETEC : Les <i>E. coli</i> enterotoxinogènes	Adhésine (CFA) Entérotoxines LT et ST	diarrhée aqueuse aiguë chez les enfants moins de 3 et des voyageurs
EAEC/EAgEC : Les <i>E. coli</i> entéroagrégatifs	EAST-1 : enteroaggregative <i>E. coli</i> heat stable enterotoxin	diarrhée persistante
DAEC : Les <i>E. coli</i> à adhérence diffuse	d'adhésion diffuse sur cellules épithéliales Hep-2	Diarrhées (enfants entre 2 à 6 ans)

#### 5.4.3. Les septicémies méningites néo-natales

Les méningites bactériennes néonatales ont un taux de mortalité qui dépasse 10 %. *E. Coli* représente la deuxième bactérie impliquée après le streptocoque du groupe B ; Une infection est dite néonatale si sa date de survenue se situe entre la naissance et le 28ème jour, quel que soit le germe responsable.

En général, il se produit suite à une contamination durant l'accouchement, en passant à travers les voies génitales, sinon à la suite d'une infection ascendante du liquide amniotique par rupture prématurée des membranes. Lorsque la colonisation des nouveaux nés se reproduit fréquemment à partir de la flore vaginale, on constate que seulement 1 % des enfants contaminés avec des souches potentiellement virulentes vont présenter une infection disséminée (31,32).

## 5.5. Facteurs de pathogénicité

Les colibacilles pathogènes portent des gènes de virulences qui codent pour des facteurs de pathogénicité intervenant à toutes les étapes de l'infection.

### 5.5.1. Les adhèsines

Les adhèsines sont de nature protéiques, portées par des pilis et se trouvent chez tous les pathovars excepté chez EIEC (phylogénitiquement proche de *shigella*) ; ces adhèsines possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales (31).

### 5.5.2. Des systèmes de captation de fer

Les systèmes de défense naturelle capture le Fer pour qu'ils ne soient pas utilisables par les bactéries, la production des sidérophores fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication et le conduisent vers leur membrane où il sera capturé (32).

### 5.5.3. La capsule

La capsule est de nature polysaccharidique qui inhibe l'action du complément ce qui rend la phagocytose plus difficile. La capsule de type K1 est peu immunogène. Ce sont les *E. coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néo-natales (32).

### 5.5.4-Les toxines

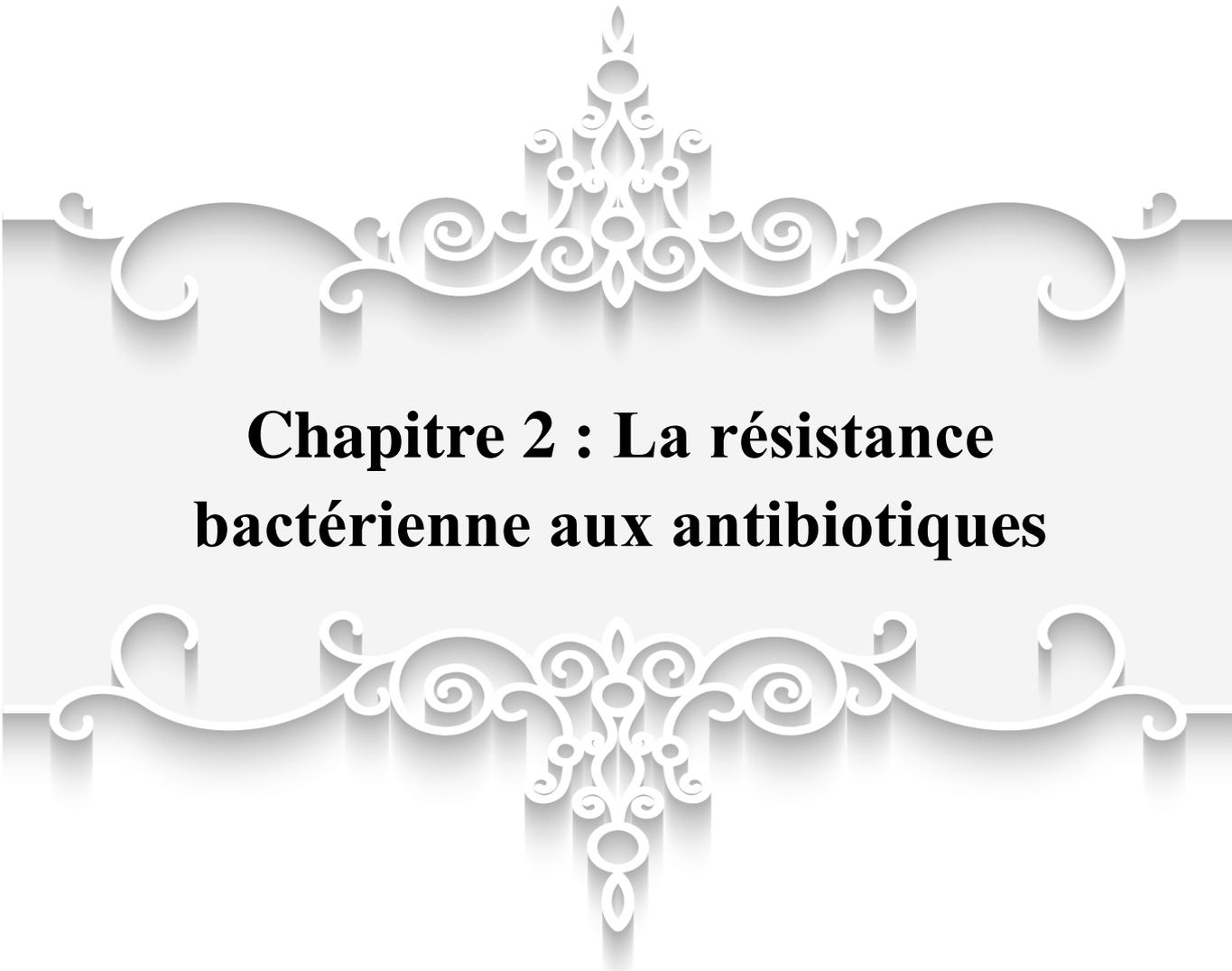
Certains groupes d'*E. Coli* produisent des toxines particulières. Les entérohémolysines des EHEC, les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles : proches des toxines cholériques) et les cytotoxines SLT1 et SLT2 (shiga-like toxines) sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes (32).

Le mode d'action de ces toxines peut être subdivisé en plusieurs groupes suivants :

- ✓ Facilitant l'invasion tissulaire,
- ✓ Lysant les cellules de l'hôte (hémolysine  $\alpha$ ),
- ✓ Bloquant la synthèse protéique (Shiga toxines).

#### 5.5.5. Les protéines

Les protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément (32).

A decorative white scrollwork border with intricate floral and scroll patterns, centered on the page. The border is symmetrical and features a central vertical element with a pointed top and bottom.

## **Chapitre 2 : La résistance bactérienne aux antibiotiques**

## 1. Définition

Une souche bactérienne est dite “résistante” lorsqu’elle supporte une concentration d’antibiotique, notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (34).

## 2. Types de résistance aux antibiotiques

On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise (34).

### 2.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle ou “intrinsèque” correspond à la résistance de toutes les souches d’une même espèce ou d’un même genre bactérien à un antibiotique. Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique. La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l’espèce.

Pour chaque classe d’antibiotique, il existe des espèces bactériennes pour lesquelles l’antibiotique est inactif par défaut de cible ou d’accès à la cible. Ainsi, l’absence de paroi chez les *Mycoplasmes* par exemple, ce qui rend les  $\beta$ -lactamines inactives vis-à-vis de ces bactéries (34).

### 2.2. La résistance acquise

La résistance acquise correspond à l’acquisition d’une résistance à un antibiotique par une souche normalement sensible. Elle n’apparaît que chez quelques souches d’une espèce donnée normalement sensible, à l’inverse de la résistance naturelle qui est caractéristique de l’espèce.

Cette résistance est variée en fonction de temps, de la localisation, de l’utilisation des antibiotiques. L’acquisition de la résistance peut être liée à un apport plasmidique (acquisition des gènes transférés d’un autre micro-organisme) ou à une mutation chromosomique (34).

#### 2.2.1. La Résistance chromosomique

L’acquisition de la résistance est due à la mutation d’un gène chromosomique

La mutation correspond à une addition, une délétion ou une substitution de bases dont la conséquence est une erreur de lecture du code génétique. Cette modification entraîne une résistance en :

- rendant la cellule imperméable à ces antibiotiques
- rendant les cibles pariétales (protéines de liaison à la pénicilline par exemple) ou intracellulaires (ADN gyrase, ARN polymérase, ribosomes)
- codant pour la synthèse d'enzymes inhibitrices.

Ce type de résistance est un phénomène : spontané, rare, indépendant de l'antibiotique, spécifique, héréditaire et stable mais non transmissible en dehors de pro génie (35).

### 2.2.2 .La résistance extra-chromosomique

- Plasmides

Un plasmide est une molécule d'ADN circulaire naturelle ou modifiée artificiellement, possède obligatoirement une origine de réplication, peut se transmettre par transfert horizontal, de cellule en cellule. S'il porte un gène d'intérêt (résistance à un antibiotique par exemple).

Les caractéristiques de cette résistance sont :

- le niveau de résistance plasmidique est en général élevé
- Phénomène lié directement à l'utilisation d'antibiotiques : les antibiotiques à spectre large peuvent être sélectionnés dans les populations commensales de l'organisme les bactéries porteuses de plasmides R.
- Phénomène non spécifique d'une famille d'antibiotique. Plusieurs groupes d'antibiotiques différents sont touchés après administration d'un seul d'entre eux
- La perte d'un ou plusieurs caractères de résistance est possible mais rare (34).

- Les transposons

Ce sont des fragments d'ADN, capables de changer leur localisation dans le génome sans jamais apparaître à l'état libre. Ils codent pour les déterminants de la transposition et ceux d'autres fonctions telles que la résistance aux antibiotiques en s'intégrant soit dans le chromosome soit dans le plasmide, en allant de l'un à l'autre (34).

### 2.2.3. Résistances par acquisition des gènes transférés

L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'élément mobile. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les transposons. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes.

Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal: la transformation, la transduction et la conjugaison (35).

#### ➤ Conjugaison

Dans ce cas une bactérie donneuse transmet à une bactérie receveuse une copie de son plasmide porteur de gène de résistance (appelé plasmide R ou facteur R). Ce mécanisme peut s'effectuer entre bactéries de la même espèce, au sein d'un même genre ou parfois entre bactéries de genres différents d'où son efficacité. Par exemple, *Staphylococcus aureus* peut échanger du matériel génétique avec *E. coli* (36).

#### ➤ Transformation

C'est le résultat d'un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries. On peut alors obtenir de nouveaux gènes de résistance. Ce processus se fait généralement entre bactéries de genre proche car il doit y avoir une forte analogie entre les séquences nucléotidiques pour permettre la recombinaison (36).

#### ➤ Transduction

Dans la transduction, un virus bactériophage incorpore une séquence d'ADN d'une bactérie et la transmet à une autre bactérie. Du fait de la spécificité des bactériophages, ce phénomène n'a lieu que pour les bactéries de la même espèce (36).

### 2.3. La résistance croisée

C'est un phénomène par lequel une bactérie qui a développé une résistance à l'un des antibiotiques d'une classe devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) présentes chez les bactéries à Gram négatifs d'avoir une résistance si étendue ( $\beta$ -lactamines et céphalosporines) (37).

### 2.4. La Co-résistance

La Co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles (36).

## 1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Bien que plusieurs mécanismes soient impliqués dans les résistances acquises de certaines espèces bactériennes à certains antibiotiques, les suivants sont communément décrits :

### 3.1. Diminution de la perméabilité

L'absence de perméabilité de la paroi est un phénomène de résistance naturelle chez certaines espèces mais peut survenir chez des espèces sensibles à la suite d'une mutation chromosomique. L'altération des purines suite à une mutation chromosomique diminue le passage des molécules et réduit la sensibilité des bactéries à certains antibiotiques (38).

### 3.2. Modification du site d'action

Si la cible d'action d'antibiotique a subi une altération par une mutation, l'antibiotique est incapable de se fixer ou se fixe mal à cette molécule modifiée. Par conséquent son action inhibitrice ou destructrice est limitée ou annulée. Exemple : modification des PLP est l'un des mécanismes de résistance aux bêta-lactamines (38).

### 3.3. La destruction ou l'inactivation du médicament par des enzymes

Ce sont surtout les antibiotiques d'origine naturelle, tels que les pénicillines et les céphalosporines, qui sont détruits ou inactivés par des enzymes. Les médicaments entièrement de synthèse tels que les fluoroquinolones sont moins vulnérables à cet égard, bien qu'ils puissent être neutralisés par d'autres moyens. On peut supposer que les microbes n'ont tout

simplement pas eu le temps de s'adapter à ces structures chimiques inhabituelles. Les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénems ont en commun une structure, le cycle B-lactame, que les B-lactamases, des enzymes bactériennes, attaquent et hydrolysent. On connaît à l'heure actuelle près de 200 B-lactamases différentes, chacune spécifique d'une variation mineure de la structure du cycle. La mieux connue des bactéries résistantes et le fameux *Staphylocoque doré* résistant à la méthicilline (SDRM), qui résiste non seulement de la méthicilline, mais presque tous les antibiotiques. En outre *S.aureus* n'est pas la seule bactérie concernée, d'autres agents pathogènes tels que *Streptococcus pneumoniae*, échappent aussi aux B-lactamines (39).

### 3.4. Le blocage de la pénétration dans la cellule

Les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les autres aux antibiotiques. Les structures de leurs parois cellulaires limitent l'absorption de nombreuses molécules en obligeant celles-ci à passer par des ouvertures appelées porines. Chez certains mutants les porines sont modifiées si bien que les antibiotiques ne peuvent pas pénétrer dans l'espace périplasmique. Fait peut-être plus important, lorsque il y a les B-lactamases dans l'espace périplasmique, l'antibiotique qui parvenu jusque-là est attaqué et inactivé (39,40).

### 3.5. modification de la cible du médicament

Pour que la synthèse d'une protéine s'effectue, le ribosome doit interagir avec un brin d'ARNm et des ARNt. Plusieurs antibiotiques, en particulier les Aminoglycosides, les tétracyclines et macrolides, inhibent la synthèse des protéines en se liant aux sites de ces interactions. Certaines modifications mineures de ces sites peuvent neutraliser les antibiotiques sans perturber le fonctionnement de la cellule bactérienne de façon appréciable(40).

### 3.6. L'expulsion du médicament

Certaines protéines de la membrane plasmiques des bactéries à Gram négative sont des pompes qui expulsent les antibiotiques et les empêchent d'atteindre la concentration requise pour qu'ils soient efficaces. C'est avec la tétracycline qu'on a observé ce mécanisme pour la première fois. On sait aujourd'hui qu'il confère la résistance à presque toutes les grandes classes d'antibiotiques. Les bactéries ont normalement un grand nombre de pompes pour éliminer les substances toxiques (41).

## **4. La multi-résistance**

On dit une bactérie multi résistante aux antibiotiques (BMR), quand les traitements antibiotiques n'ont plus d'effet contre elle et ne sont tuées que par un petit nombre d'antibiotiques habituellement actif en thérapeutiques. Cette résistance est due à une exposition trop fréquente des bactéries aux traitements antibiotiques. Les bactéries s'adaptent pour survivre. Le risque principal de cette résistance aux antibiotiques est de ne trouver aucun traitement capable d'éliminer une bactérie (41,42).

## **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 (42,43).

A decorative white scrollwork border with intricate floral and vine patterns, framing the central text. The border is symmetrical and features a central vertical axis with ornate flourishes extending outwards and downwards.

## **Chapitre 3 : Les antibiotiques**

## 1 .Définitions des antibiotiques

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique d'origine naturelle ou produite par des micro-organismes ayant le pouvoir d'inhiber (effet bactériostatique) et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes (effet bactéricide).

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large. 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 (44,45).

## 2. Effet des antibiotiques

### 2.1. Antibiotique bactériostatique

C'est une substance qui inhibe la multiplication et la croissance des bactéries sans les tuer. Il modère la croissance bactérienne en interférant avec :

- ❖ La synthèse des protéines bactériennes
- ❖ La production d'ADN bactérien
- ❖ Le métabolisme cellulaire bactérien (46).

### 2.2. Antibiotique bactéricide

Il s'agit d'une substance ayant la capacité de tuer des bactéries en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines.

Parmi ces effets il existe : des Antibiotiques à spectre étroit qui ont une efficacité sur un nombre limité de types de germes. Cette spécificité leur permet ainsi de cibler un germe et une pathologie, ainsi que des antibiotiques à spectre large qui sont efficaces pour un grand nombre de types de germes et ce sont généralement actifs sur les bacilles Gram-. Par contre,

l'efficacité des antibiotiques à spectre moyen ou limité est réduite ou partielle sur un groupe de germes (47,48).

### 3. 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 microorganismes (49).

#### 3.1. Action sur la synthèse de la paroi bactérienne

C'est le blocage de la synthèse de la paroi, ce qui fragilise fortement l'enveloppe externe des bactéries qui protègent l'environnement extérieur (pression osmotique, T°, stress mécanique) et généralement les microorganismes dans un environnement osmotiquement hostile et ce qui autant une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclaté. Chez les microorganismes gramme +, la pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparents empêchent la réaction de transpéptidation qui est une étape importante dans l'assemblage de peptidoglycane, Par contre les bactéries gramme – sont moins sensibles à la pénicilline car leurs enveloppes externes empêchent l'antibiotique d'attendre la couche de peptidoglycane de la cellule (49,50).

#### 3.2 Action sur la membrane cytoplasmique

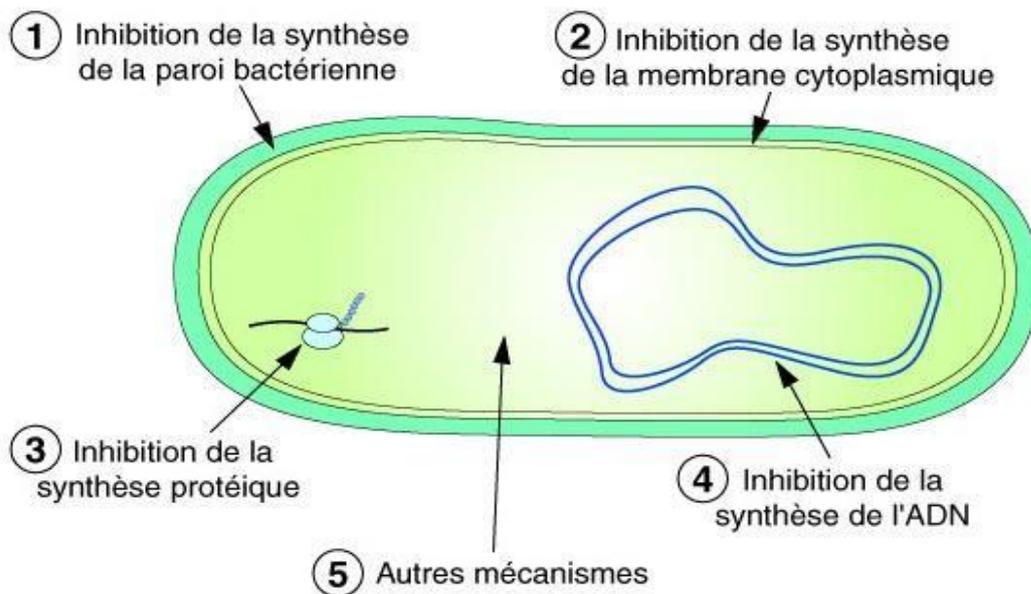
Il existe quelques molécules d'antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules, ce sont essentiellement des détergents qui jouent un rôle important dans la désorganisation des lipides ou la formation des pores dans la membrane qui provoque l'infiltration des composés cellulaires et la morte bactérienne (49,51).

#### 3.3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

Certaines familles des antibiotiques sont responsables de l'inhibition de la synthèse et le fonctionnement des acides nucléiques (ADN, ARN) tel que la Rifampicine, Sulfamide, Quinolone et Trimètoprine donc ils jouent un rôle importants dans l'inhibition de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN polymérase et aussi la diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques (52).

### 3.4. Inhibition de synthèse protéique

Les Tétracyclines, Aminosides, Chloramphénicol, Macrolides, Acide Fucidique, Linézolide. Ceux-ci empêchent la traduction de l'ARNm par la fixation sur la petite sous-unité des ribosomes ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale(52).



**Figure 3 :** Les différents emplacements d'un antibiotique dans une bactérie (53).

## 4. classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés selon différents critères :

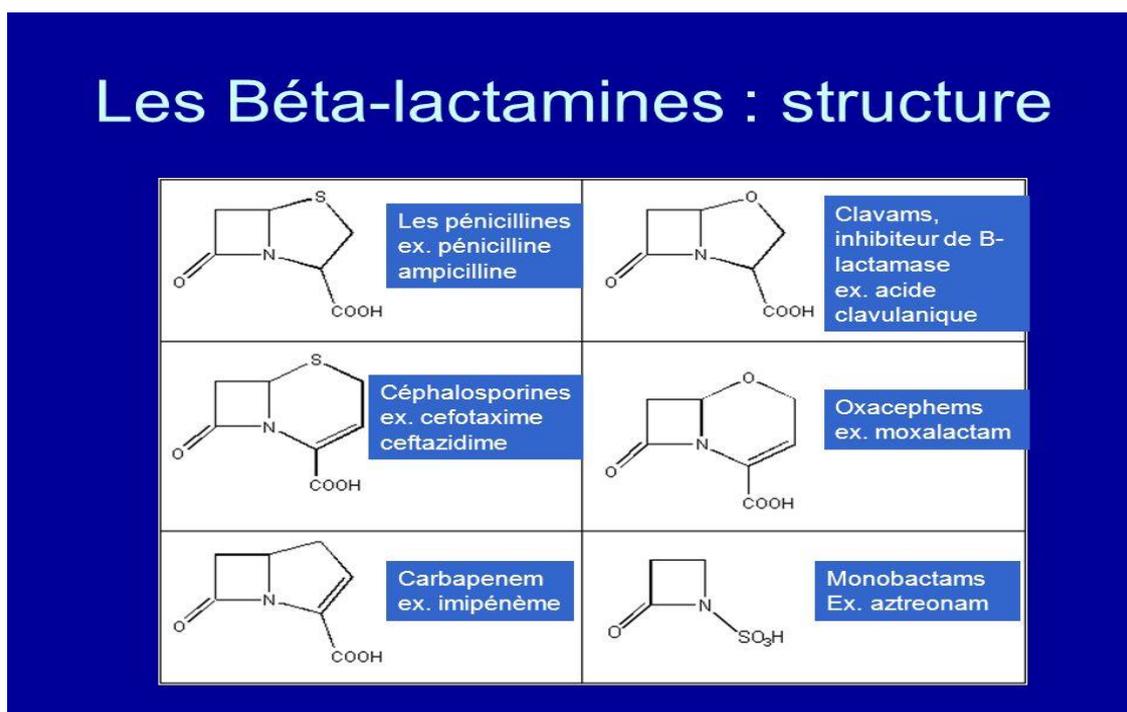
- l'origine de l'antibiotique : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- leur Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- leur Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit Ou spectre large).
- leur Nature chimique : très variable, nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc (54).

A partir des critères de classification. Les antibiotiques sont classés en différentes familles :

## 4.1. Les $\beta$ -lactamines

### 4.1.1. Définition et structure de classification

Les  $\beta$ -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisables dans le traitement des infections causées par les entérobactéries. Ils ont en commun une structure appelée l'anneau  $\beta$ -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules et ont un effet bactéricide, et un large spectre antibactérien. Leur efficacité a été confrontée à la production d'enzymes les inactivant : les  $\beta$ -lactamases. Le noyau azétidinone est la structure de base des  $\beta$ -lactamines et c'est lui qui contient la structure carbonyle lactame indispensable à l'activité des molécules (55,56).



**Figure 4** : Structures de quelques  $\beta$ -lactamines (57).

Selon la Structure de  $\beta$ -lactamine, on trouve différentes classes :

#### 4.1.1.1. Les pénicillines (Les pénames)

Possédant un cycle pentagonal saturé, constitué de trois parties : un noyau Thiazolidine fixé sur un cycle Azétidinone et d'une chaîne latérale en C-6 qui permet de les distinguer. Elles sont regroupées au sein de la classe des pénames qui comprend les pénicillines, les Oxa-1-péname (ex acide clavulanique) et les Carbapénames (58,59).

- Pénicilline G et V (naturelles) : Pour les bactéries Gram positif et les coques à Gram négatif.
- Groupe A (Aminopénicillines) : Ampicilline et Amoxicilline spectre élargi, orienté sur certains bacilles à Gram négatif mais inactivées par les pénicillinases.
- Carboxypénicillines : (Ticarcilline, carbénicilline) spectre élargie sur les bacilles Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*.
- Uréidopénicillines : Leur spectre d'activité regroupe la plupart des souches d'entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*.
- Oxapénames ou clavâmes : l'Amoxicilline+l'acide clavulanique : en association avec une autre  $\beta$ -lactamine (Amoxicilline ou Ticarcilline+Acide clavulanique) et utilisés comme inhibiteur de  $\beta$ -lactamases.

#### 4.1.1.2. Les Céphalosporines

Les Céphèmes, Céphamycines et Oxalcéphèmes, en dépit de leurs différences de structure sont souvent désignés en Céphalosporines: à cycle hexagonal saturé et classés selon leur activité antibactérienne. Ce sont tous des produits à large spectre (60).

#### 4.1.1.3. Monobactames

Ils se caractérisent par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle beta lactame. Exemple : Aztreonam (62).

#### 4.1.1.4. Pénèmes

Ayant un cycle pentagonal insaturé, Possédant un large spectre antibactérien incluant les bactéries à Gram négatif (entérobactéries) ; Gram positif, sauf les staphylocoques et les entérocoques. Les carbapénèmes se distinguent des pénicillines (pénams) par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et d'une liaison insaturée en C2-C3, ont un effet bactéricide (61).

#### 4.1.2. Mode d'action des $\beta$ -lactamines

La fixation des  $\beta$ -lactamines sur ces PLP qui sont des enzymes situées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne et responsable de l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane (62).

### 4.2. Les Aminosides

#### 4.2.1. Définition

Les Aminosides sont des antibiotiques bactéricides de la famille des Aminoglycosides, se sont des molécules polycationiques et hétérosides naturelles formées par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Elles sont classées par UMEZAWA en 1979 en fonction de la structure chimique centrale en trois classes: Streptamine, 2 désoxystreptamine et Streptidine (65).

Selon la position des sucres fixés sur le cycle désoxystreptamine on classe les Aminosides en deux familles :

- Substitution en 4-5: néomycine, paromomycine, lividomycine, ribostamycine et butyrosine
- Substitution en 4-6: ici se situent tous les aminosides essentiels, parmi lesquels on peut rapprocher, en fonction des analogies de formules, kanamycine, tobramycine, dibékacine et amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine.

#### 4.2.2. Mode d'action des aminosides

Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies notamment les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (*Listeria*). Ils se fixent sur les ribosomes et perturbent à leur niveau, la traduction des ARNm. Il s'ensuit des erreurs de réception des messages et l'incorporation d'aminoacides différents avec formation de protéines défectueuses d'où l'effet bactériostatique et ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne (65).

### 4.3. Les Quinolones

Les Quinolones sont des antibiotiques synthétiques et bactéricides, découverts en 1962 par l'isolement d'acide nalidixique à partir d'une préparation de chloroquine destinée au

traitement du paludisme. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leurs spectres d'activité. Ces fluoroquinolones, qui sont des Quinolones de deuxième génération (norfloxacine, péfloxacine, ciprofloxacine), sont largement utilisées en médecine humaine et vétérinaire, les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningées, abdominales... etc. Fluoroquinolones sont plus utilisés pour inhibition de la synthèse de l'ADN (65).

#### 4.4. Les Phenicoles

##### 4.4.1. Le Chloramphénicol

C'est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est utilisé au Traitement de la fièvre typhoïde.

##### 4.4.2. Thiamphénicol

Très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire (65).

#### 4.5. Les Polypeptides

##### 4.5.1. La Vancomycine

Utilisée pour la représentation de la Glycopeptides et Le chlorhydrate de Vancomycine représente le principe actif, elle est administrée par voie intra - veineuse uniquement. Antibiotique à usage hospitalier.

##### 4.5.2. La Teicoplanine

Utilisée pour la représentation de G lycolipopeptides. Cette molécule est un acide faible soluble dans l'eau. Sa grande lipophilie lui permet une meilleure diffusion tissulaire et un relargage lent. Antibiotique à usage hospitalier (65).

##### 4.5.3. La Polymyxine

Utilisée pour la représentation de lipopeptides. On distingue : Polymyxine  $\beta$  (Polymyxine®) et la Polymyxine E (Colimycine®). Elle Se caractérise par une chaîne peptidique à laquelle est fixée une chaîne lipidique (65).

## 4.6. Les rifamycines

On distingue trois antibiotiques : La Rifamide, la Rifampicine et La Rifamycine SV (Rifocine®), qui sont constituées d'un macro-cycle et d'un cycle aromatique (65).

## 4.7. Les tétracyclines

Elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité. Ce sont également des bactériostatiques. On distingue :

### 4.7.1. Les cyclines naturelles

- Chlortetracycline (Auréomycine®)
- Tetracycline base (Tetracyne ®)

### 4.7.2 .Les cyclines semi synthétiques

- Oxytetracycline (Terramycine®),
- Doxycycline (Vibramycine®),
- Minocycline (Mynocine®) (65).

A decorative white scrollwork border with intricate floral and vine patterns, centered on a light gray background. The border is symmetrical and features a central vertical axis with a pointed top and a pointed bottom. The text is centered within the border.

## **Partie Matériel et Méthodes**

## 1. lieu du travail

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de bactériologie dans le centre hospitalo-universitaire Ibn Badis (Constantine) au niveau de la pailasse d'Examen cytbactériologique des urines ECBU qui permet la détection de la présence des micro-organismes ou des substances suspectes dans les urines.

## 2. Matériel

Dans notre travail on a utilisé le matériel suivant :

**Tableau 5** : le matériel et les milieux utilisés

Matériel utilisés	Milieux de culture solide	Besoin d'identification
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bec bunsen</li> <li>• Pipettes pasteur</li> <li>• Boites de pétri</li> <li>• Etuve</li> <li>• Distributeurs d'antibiotiques</li> <li>• Ecouvillon</li> <li>• un pied à coulisse</li> <li>• densitomètre</li> <li>• Microscope optique</li> <li>• Les lames et lamelles</li> <li>• Agitateur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieu Hektoen</li> <li>• Mueller Hinton</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieu TSI</li> <li>• Milieu Mannitol mobilité</li> <li>• Milieu Citrate de Simmons</li> <li>• Urée Indole</li> <li>• Kovacs</li> <li>• violet de gentiane</li> <li>• L'alcool</li> <li>• Lugol</li> <li>• Fuchsine</li> <li>• L'eau physiologique</li> <li>• huile à l'immersion</li> </ul>

## 3. Les souches utilisées

Nous avons étudié deux souches d'*Escherichia Coli* : EC 1 et EC 2 déjà purifiées.

## 4. Méthode de travail

### 4.1. Etude macroscopique

Pour avoir l'aspect des colonies, leurs couleur, leurs taille, leurs forme, leurs consistance, ainsi que leurs capacité à fermenter le lactose.

### ➤ Repiquage des souches

Sur milieu Hektoen , on ensemence nos souches séparément EC1 et EC2 par la technique des trois cadrans en effectuant des stries serrées, les souches sont ensuite Incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h (anex).

## 4.2 .Etude microscopique

Cette étude permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement, leur abondance et leur mobilité.

### ➤ Etat frais

Etat frais ce fait suite à une préparation d'un simple frottis avec une goutte d'eau physiologique et une colonie sur une lame et on recouvre par une lamelle ensuite observation au microscope optique à l'objectif x 40.

### ➤ Coloration de gramme

Il s'agit d'une technique qui permet de distinguer les bactéries en fonction de structure de leur paroi, ces étapes sont les suivantes:

Après la réalisation d'un frottis on fait un séchage et fixation par la chaleur et on Recouvrir par le violet de gentiane .laissez agir 1 min puis rincez à l'eau. Ensuite recouvrir de lugol, et laissez agir 1 min, puis laver à l'eau physiologique. Et après Décoloration par l'utilisation de l'alcool, pendant 30 secondes puis rinçage. Recoloration par la fuchsine. Laisser agir 1 min puis rincez à l'eau. Enfin séchage de la lame, on l'observe avec une goutte d'huile à l'immersion objective x 100(annexes).

Les bactéries gram positif apparaissent colorées en violet, alors que les bactéries gram négatif sont roses.

## 4.3. Confirmation des souches *d'Escherichia Coli* par des tests biochimique

### 4.3.1. Galerie biochimique classique

#### ✓ Préparation de la suspension bactérienne

On prélève une colonie bien isolée sur milieu Hektoen et on la met dans 2 .5 ml d'eau physiologique, et après une agitation on ensemence les milieux inclinés par des stries serrés et le culot par une pique centrale.

## 4.3.1.1. Test citrate de Simmons :

Cette recherche est pour identifier des entérobactéries par l'utilisation ou non du citrate comme seule source de carbone.

**Tableau 6** : Méthode du test de citrate de Simmons (annexes)

Aspect du milieu avant L'ensemencement	Aspect du milieu après ensemencement	Mode d'ensemencement	Résultats
		<ul style="list-style-type: none"> <li>•On ensemence la pente par des stries longitudinales</li> <li>•Ne pas visser le bouchon à fond afin de permettre les échanges gazeux</li> <li>•Incubation à 37°C pendant 18 à 24h</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Virage de l'indicateur de pH du vert au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et le teste : Citrate de Simonne +</li> <li>2. Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture : la souche est Citrate-</li> </ol>

## 4.3.1.2. Le test TSI (triple sugar iron)

Pour avoir la fermentation des trois sucres : du glucose, du lactose et saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et la production du gaz.

Tableau 7 : technique du teste TSI (annexes)

Aspect du milieu avant L'ensemencement	Aspect du milieu après l'ensemencement	Mode d'ensemencement	Résultat
		<p>La pente est ensemencée par des stries et le culot par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24h.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Virage de couleur en jaune : résulte de la production d'acide qui est provoqué par la fermentation de glucide (Glucose, Saccharose, Lactose).</li> <li>•La présence du bulle et le déplacement du milieu vers le haut signifie qu'il y a une production d gaz.</li> <li>•La production de H<sub>2</sub>S se traduit par un précipité noir.</li> </ul>

## 4.3.1. 3.Test mannitol-mobilité :

Test pour confirmer la mobilité bactérienne et l'utilisation du mannitol.

**Tableau 8:** Test de mannitol mobilité (annexes)

Aspect du milieu avant L'ensemencement	Aspect du milieu après L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Résultats
		<p>Ensemencement par pique centrale jusqu'au fond du tube à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24 h.</p>	<p>Milieu jaune : signifie la fermentation du mannitol.</p> <p>La croissance bactérienne tout autour de la pique signifie sa mobilité: mobilité +</p> <p>lorsqu'il y a une culture uniquement au niveau de pique centrale : mobilité-</p>

#### 4.3.1. 4. Test de l'urée –Indole

On effectue ce test pour avoir la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane avec la tryptophanase et de l'urée par une uréase.

L'ensemencement se fait par l'ajout de quelques gouttes d'urée à la suspension bactérienne, et après une incubation à 37°C pendant 24h on fait la lecture des résultats :

Lorsque le milieu est rose (basique) on dit que l'uréase est négatif, quand le milieu prend la couleur orange ou jaune on dit que l'uréase est positif.

Par la suite, on ajoute quelques gouttes de réactif de Kovacs :

Si on observe un anneau rouge c'est que l'indole est positif, et s'il n'y a pas d'anneau, on dit que l'indole est négatif.

## 4.4. L'antibiogramme

### 4.4.1. Réalisation d'antibiogramme

Dans une boîte de pétri, verser le milieu Mueller-Hinton jusqu'à obtenir une épaisseur de 4mm de façon uniforme et on racle avec un écouvillon une colonie bien isolée et parfaitement identiques sur une culture pure de 18 à 24h et la transfère dans un tube contenant 2.5 ml d'eau physiologique stérile, après une homogénéisation de la suspension bactérienne on trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum et l'essorer en pressant fermement (et en tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum et frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche haute en bas, en tries serrées, répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte 60° à chaque fois, sans oublié de faire pivoté l'écouvillon sur lui-même ensuite en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose enfin par l'utilisation d'un distributeur de disque, on dépose les disques d'antibiotiques et appuie doucement sur chaque disque par une pince stérile pour assurer un contact avec le milieu.

### 4.4.2. Les antibiotiques testés

- Pour les bêta-lactamine : l'Amoxicilline(EML), la Ticarcilline(TIC), Piperacilline(PRL), la Céfazoline(CZ), la Céfoxitine(FOX), la Céfotaxime(CTX), Ceftazidime(CAZ) Imipénème(IMP), Aztreonam(AZT), Ertapenem(ERT).
- Pour les aminosides : la Gentamycine (CN) et Tobramycine(TOB).
- Pour les quinolones : la Pefloxacin.
- Pour les polypeptides : la Colistine(CT).
- Pour les sulfamides : le Sulfaméthoxazole+Triméthoprime.
- Autres : La Nitrofurantoïne(F). Fosfomycine(FOT), Minocycline(MH)

### 4.4.3. Lecture et interprétation

- Par un pied à coulisse, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'extérieur de la boîte fermée
- On compare les résultats aux valeurs critiques

On classe les bactéries selon trois catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.



## **Résultats et discussion**



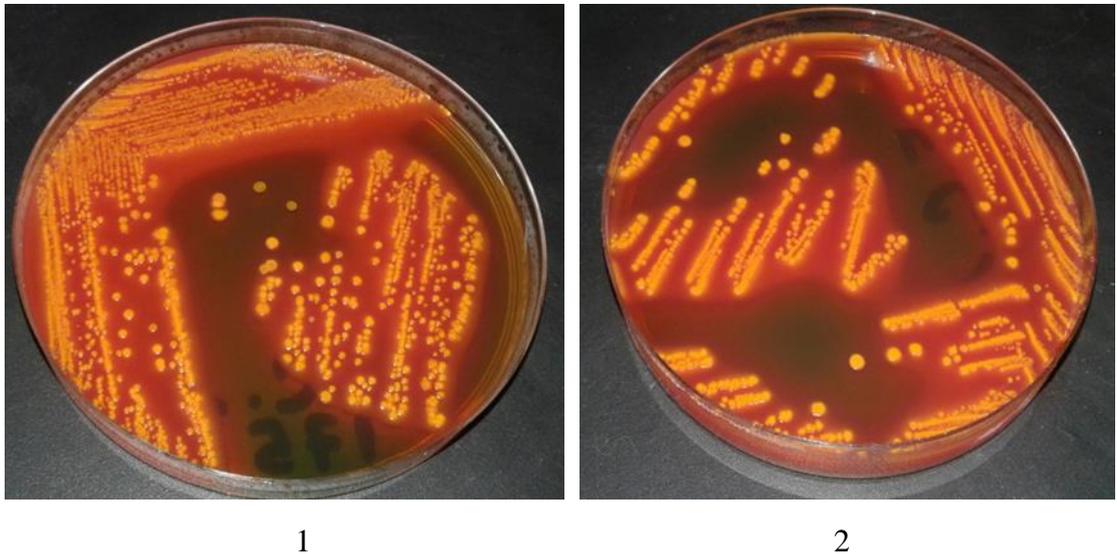
## 1-Résultats

### 1.1-Etude macroscopique des souches d'*Escherichia Coli*

#### ➤ Croissance sur milieu Hektoen

Les résultats obtenus après 24h d'incubation à 37°C sur le milieu Hektoen ont montré que les souches d'*Escherichia Coli* apparaissent en colonies :

- 1-3 mm de diamètre
- plates et sèches
- opaques
- bien rondes avec un point ombiliqué au centre.



1

2

**Figure 5 :** Aspect macroscopique des souches d'*Escherichia Coli* sur milieu Hektoen

### 1.2. Etude microscopique des souches d'*Escherichia Coli*

#### ➤ Etat frais

L'observation au microscope optique montre que la souche d'*Escherichia Coli* est mobile sous forme de bacilles polymorphes.

#### ➤ Coloration de Gram

Après la réalisation de la coloration de Gram on observe au microscope optique des bacilles colorés en rose regroupés en amas ou isolés ou bien en

petite chênnettes. Donc nos souches *d'Escherichia Coli* sont à coloration de Gram négative.

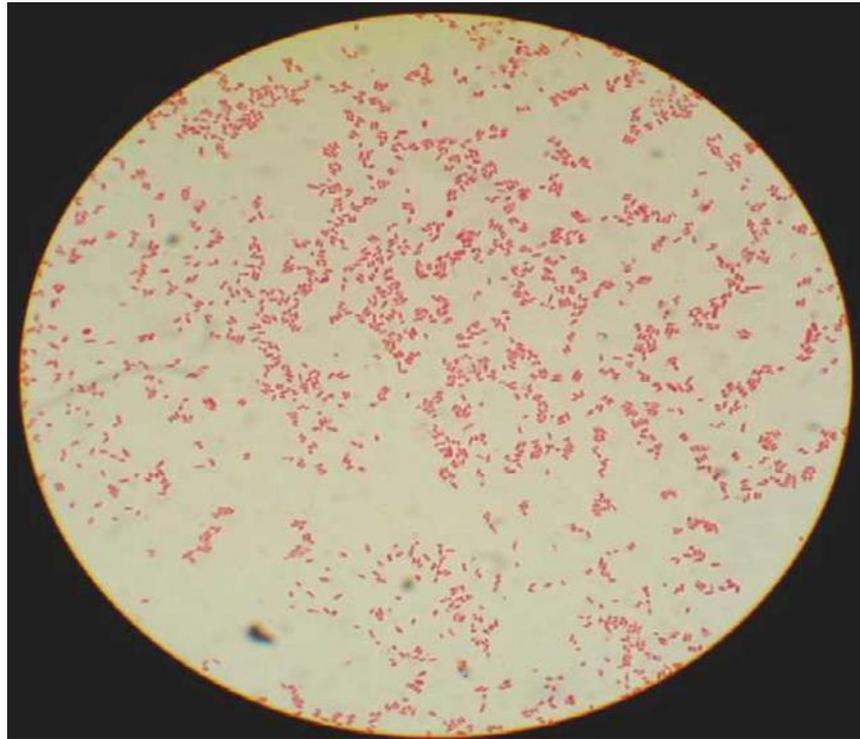


Figure 6 : observation de souche *d'Escherichia Coli* après coloration de Gram sous microscope optique G x 100.

### **1.3. La galerie biochimique classique**

#### **1.3.1. Milieu citrate de Simmons**

Après 24h d'incubation à 37°C, on a remarqué l'absence du virage de la couleur du milieu vert en bleu et l'absence des colonies, donc les souches sont citrate négatif.

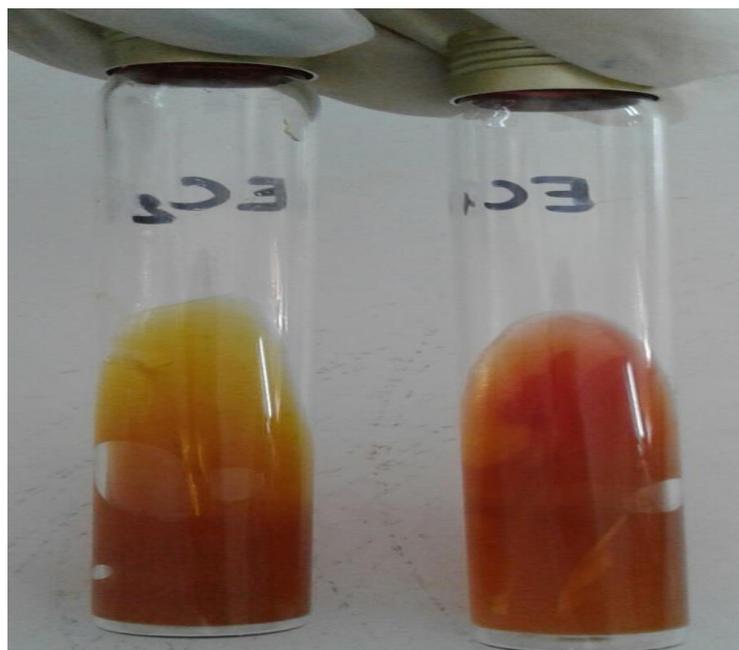


**Figure 7** : Aspect du citrate de Simmons par *Escherichia Coli* (citrate de Simmons(-))

### 1.3.2. Milieu Triple Sugar Iron (T.S.I)

Après 24h d'incubation on observe ce qui suit:

Un virage de couleur du culot et de la pente vers le jaune (acidification du milieu), et la présence des colonies crémeuse, marron claire. La production de bulle(s) gazeuse, avec un soulèvement du milieu et sulfure d'hydrogène négatif (L'absence de noircissement). Donc les souches sont : lactose et saccharose(+), glucose(+), gaz(+), H<sub>2</sub>S(-).



**Figure 8** : Résultat du test TSI

### 1.3.3. Test mannitol-mobilité

On observe une croissance bactérienne responsable du virage du rouge de phénol au jaune, ce qui confirme le changement du pH (acidification du milieu) .donc les deux souches sont mannitol(+). La mobilité de nos souches est présentée par la formation de voile au tour de la pique centrale.

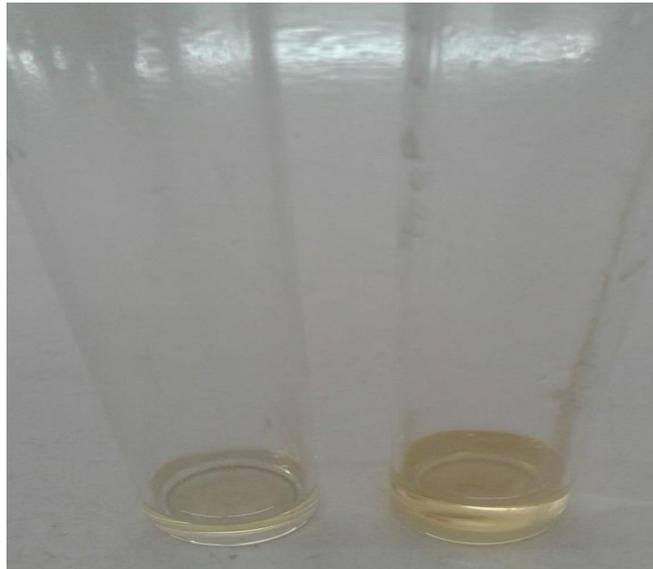


**Figure 09** : Résultat du test mannitol mobilité +

### 1.3.4. Milieu Urée –Indole

#### ➤ Recherche de l'uréase

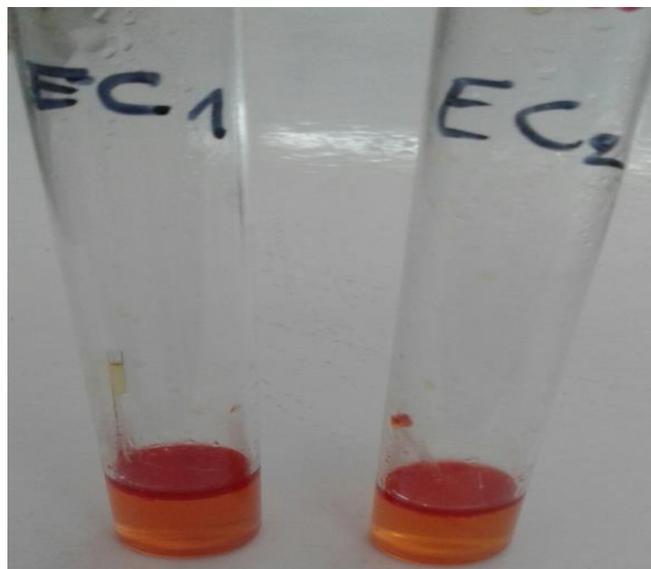
*Escherichia Coli* n'hydrolyse pas de l'urée, le milieu reste intacte on distingue une couleur jaune, alors que *Escherichia Coli* était urée (-).



**Figure10** : test d'uréase négatif

➤ Recherche de l'indole

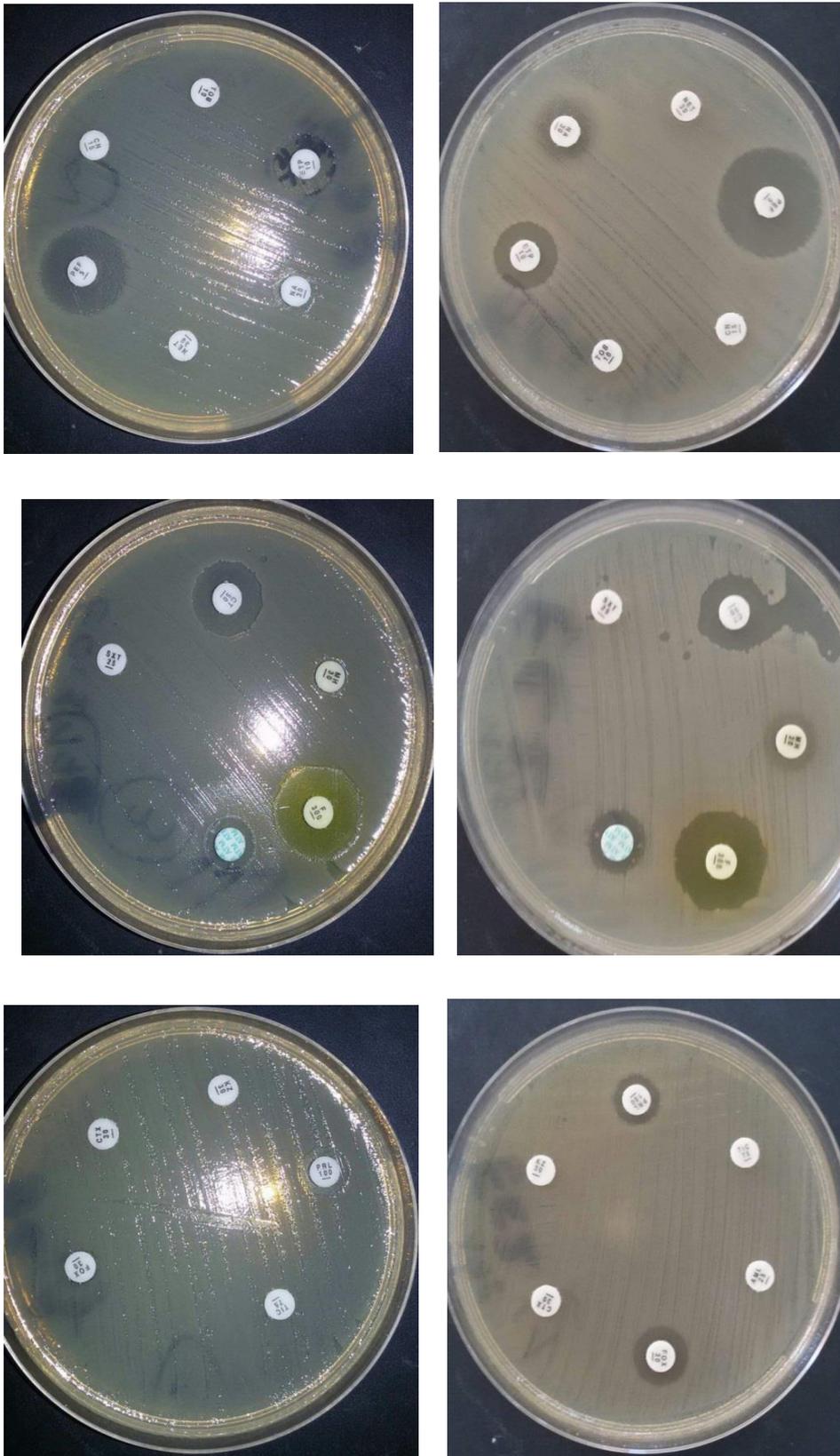
Le résultat est immédiat après l'addition du réactif de Kovacs, on remarque l'apparition d'un anneau rouge pour les deux souches *E coli*, donc elles sont indole (+).



**Figure 11** : teste de l'indole positif

#### 1.4. L'antibiogramme

La détermination de l'activité des antibiotiques sur les souches d'*Escherichia Coli* pour étudier leur phénotype de multi résistance est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (Mueller Hinton).



Antibiogramme de la souche 1

Antibiogramme de la souche 2

**Figure 12:**Résultat d'Antibiogramme des souches d'*Escherichia Coli*.

**Tableau 9:** Le profil de résistance/sensibilité pour les souches d'*Escherichia Coli*

Antibiotiques testés	Abréviation	Charge des disques (µg)	Diamètre d'inhibition (mm)		Souche 1	Souche 2
			≥ S	I < R	Diamètre critique	
<b>B-lactamines</b>						
Amoxicilline	AML	25	21	14	6R	6R
Ticarcilline	TIC	75	22	18	6R	6R
Piperacilline	PRL	100	21	14	10R	10R
Cefazoline	CZ	30	23	19	6R	6R
Cefoxitine	FOX	30	22	15	6R	11R
Cefotaxime	CTX	30	21	15	6R	6R
Ceftazidime	CAZ	30	21	17	R	R
Aztreonam	AZT	30	21	17	10R	11R
Ertapenem	ERT	10	23	19	12R	14R
Imipiném	IMP	10	22	18	23S	24S
<b>Aminosides</b>						
Gentamycine	CN	10	15	12	6R	6R
Tobramycine	TOB	10	12	15	6R	6R
<b>Autres</b>						
Acide nalidixique	NA	30	19	13	8 R	10 R
Pefloxacine	Pef				19	22
Trimétrime + Sulfaméthoxazole	SXT	1.25/23.75	16	10	6 R	6 R
Colistine	CT	CMI			15 S	17 S
Nitrofurantoïne	F	300	17	14	19 S	18 S
Fosfomycine	FOT	200	16	12	34 S	32 S
Minocycline	MH	30	19	14	8R	10R

Les souches *d'E. Coli* sont résistantes pour tous les antibiotique de la famille des  $\beta$ -lactamines :(Amoxicilline (EML), Ticarcilline(TIC), Piperacilline(PRL), Céfazoline(CZ), Cefoxitine(FOX), Céfotaxime(CTX), Ceftazidime(CAZ), Cefepime, Aztreonam(AZT), Ertapenem(ERT)) ou les zones d'inhibitions est inférieurs aux diamètres des normes para port a la charge des antibiotique de cette famille.

Sauf L'Imipinem (IMP) est très active sur les deux souches avec un diamètre d'inhibition de 23 mm pour la première souche et 24 mm pour la deuxième souche donc sensible parce que la zone d'inhibition est supérieure aux diamètres des normes para port à sa charge.

Concernant les Aminosides, parmi eux (Gentamycine CN, Tobramycine (TOB) les souches *d'Escherichia Coli* sont résistantes, dont en trouve une zone d'inhibition inférieur aux diamètres des normes ainsi que aux Quinolones et l'Acide Nalidixique (NA), Trimetprime + Sulfamethoxazole et aux Minocycline (MH) et aux autres antibiotiques qui sont très sensibles la Colistine (CT) de la famille des polymixines, les fosfomycine (FOT), nitrofurantoine (F).

---

## 2-Discussion

### 2.1. Etude macroscopique sur milieu Hektoen

Les aspects des colonies obtenues sont en relation avec la capacité des microorganismes à fermenter le lactose qui se trouve dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le PH placé dans le milieu et vire du vert au jaune-orangé, on conclut donc qu'*Escherichia Coli* est lactose positif. Ces résultats sont compatibles avec ceux qui sont mentionnés par **oulymata, 2007, kouta, 2009 (66,67)**.

### 2.2. Etude microscopique

La coloration de Gram est une coloration différentielle permettant la classification des bactéries en Gram (+) et Gram (-) tout en mettant leur forme et mode de regroupement en évidence.

À cause de sa fine couche de peptidoglycane surmontée d'une membrane complexe supplémentaire qui formée d'une épaisse couche phospholipidique intérieure surmontée de macromolécules LPS, rendant la décoloration avec l'alcool plus facile ainsi la diffusion de la fuchsine (contre coloration).

Le violet de gentiane va traverser la paroi et la membrane de la bactérie et se fixer par le Lugol sur les composants du cytoplasme.

Alors que le type de Gram est distingué par l'utilisation de l'alcool qui va rentrer dans la bactérie et décolorer le cytoplasme.

Ensuite la recoloration des bactéries par la fushine qui se traverse toutes les parois et membranes et va colorer en rose toutes les bactéries qui ont été décolorées durant l'étape précédente, afin de mieux les observer. Nos résultats sont bien confirmés par **kouta, 2009(67)**.

### 2.3. Les tests biochimiques

Les résultats obtenus sur citrate de Simmons montrent que les souches d'*Escherichia Coli* dépourvus de citrate perméase, par conséquent, elles n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone et seules les bactéries autotrophes qui sont capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone c'est-à-dire *E. Coli* est citrate de Simmons (-). **Meziani, 2012(68)**.

L'acidification et le virage de la couleur de la pente et du culot sur Milieu Triple Sugar Iron (T.S.I) signifie la présence d'une fermentation du glucose ainsi que le lactose et/ou le saccharose par les souches *d'E. Coli* avec production du gaz mais en absence de sulfure d'hydrogène H<sub>2</sub>S c'est-à-dire elles sont incapables de réduire les sulfates en sulfure. Ce qui est compatibles avec des résultats mentionnés par **Delarras, 2007** (69).

Les résultats obtenus par Test mannitol-mobilité montrent que les souches *d'Escherichia Coli* ont fermenté le mannitol et l'ont utilisé comme source de carbone et d'énergie.

La dégradation en anaérobiose du mannitol conduit à la formation de fructose dont l'attaque conduit à la formation d'acides à chaînes courtes. Cette acidité entraîne un virage progressif au jaune d'un milieu d'origine rouge.

La présence de culture tout autour de pique dans le milieu confirme la mobilité de nos souches. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux décrits par **Meziani, 2012**(68).

➤ Milieu Urée –Indole

- Recherche de l'uréase

Nos résultats ont confirmé l'absence des bactéries uréolytiques qui peuvent décomposer l'urée en carbonate d'ammonium, ce dernier alcalinise le milieu et entraîne le virage de l'indicateur coloré du pH (le rouge de phénol). Donc, on parvient à dire que les souches *d'Escherichia Coli* sont : uréase (-) car le milieu reste jaune .les résultats obtenu de ce test est déjà confirmé par **souna (2011)** (70).

- Recherche de l'indole

Après l'addition du réactif de Kovacs, le diméthyl-amino-4benzaldéhyde il peut réagir avec l'indole et forme un anneau rouge, ce qui confirme que la bactérie dégrade le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant l'indole. Donc, on parvient à dire que les souches *d'Escherichia Coli* sont : indole positive .les résultats obtenus sont en conformité avec ceux de **Meziani, 2012** (68).

### 2.3. L'antibiogramme

L'étude de la résistance des deux souches *d'E. Coli* a été réalisé sur milieu Muller Hinton selon la Méthode de standardisation et interprété selon les normes de CLSI

(Clinical and Laboratory Standards Institute) 2014.

On explique la résistance aux bêta-lactamines par la production de bêta-lactamases surtout plasmidiques et rarement chromosomiques qui inactive les bêta-lactamines par hydrolyse du noyau bêta-lactame, une diminution de la perméabilité de la membrane externe aux antibiotiques hydrophiles par modification des porines chez les bacilles à Gram négatif, ainsi que des phénomènes d'efflux. Les résultats obtenus sont déjà confirmés par **Filali et al. (2000) (71)**.

La résistance aux cefoxitine est due soit par l'imperméabilité aux antibiotiques soit par l'association à une céphalosporine.

La Résistance à l'Ertapeneme pour les deux souches testées est due à une activité enzymatique des carbapénèmases qui rend l'antibiotique inactif par l'hydrolyse de son noyau  $\beta$ -lactames.

Chez les entérobactéries dont *E. coli* : La résistance peut être due à des mécanismes plasmidiques à l'association de Mécanismes de résistances (beta -lactamase à spectre étendu [BLSE] et/ou céphalosporinase Associée à une perte de la perméabilité membranaire en raison de la perte ou l'altération des Porines chez les entérobactéries) ou à la production d'enzymes périplasmiques hydrolysant les carbapénèmes : autrement dit les carbapénèmases. Nos résultats sont déjà confirmés par **P. Nordmann, et al. (2010) (73)**.

Les souches BLSE sont résistantes à tous les pénicillines et les Séphalosporines de première deuxième troisième et quatrième génération sauf céfoxitine et les Carbapénèmes (Imipenème).

Il y a une résistance acquise à l'acide Nalidixique donc il y a un risque de développement d'une résistance aux Fluoroquinolones.

La Nitrofurantoïne et la Fosfomycine conservent une excellente activité chez les deux souches d'*Escherichia Coli* d'où l'intérêt de leur utilisation dans les formes non compliquées.

Ces résultats sont en parfait accord avec ceux décrits par **A. Lezzar (2016)**.

On explique la résistance aux Aminoglycosides par l'inactivation enzymatique et la mutation des petites unités ribosomiques.

Il existe trois mécanismes qui expliquent la résistance aux Aminosides :

- Défaut de pénétration de l'antibiotique : c'est l'imperméabilité de la membrane externe ou altération du transport actif à travers la membrane cytoplasmique (résistance acquise ou naturelle)
- Modification de la cible ribosomale : c'est-à-dire la mutation d'un gène codant pour la protéine ribosomale S12 ou pour l'ADN ribosomal 16S
- Inactivation de l'antibiotique par l'expression plasmidique d'enzymes d'inactivation.

3 familles d'enzymes impliquées

- La Phosphorylation par O-phosphotransférases (APH)
- La nucleotidylation par nucléodilyltransférases (ANT)
- L'acétylation par N-acétyltransférases (ACC)

Nos résultats sont déjà confirmés par **Filali et al. (2000)** (71).

L'utilisation de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose est une excellente voie mais nécessite une bonne standardisation. Il faut faire très attention aux principaux pièges de cette méthode qui sont :

- la densité de l'inoculum
- la bonne conservation des disques (la température de conservation et la date de péremption) notamment pour les bêta lactamines et aux autres antibiotiques.

Donc, La technique de diffusion en gélose utilisée pour l'étude de la résistance de ces souches a montré la résistance de ces derniers vis-à-vis à la majorité des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines et aux Aminosides grâce à des enzymes et des mécanismes spécifiques, mais une excellente activité est enregistrée pour l'imipénème, qui représente le premier choix dans le traitement des infections causées par *Escherichia Coli* multi résistante.



**Conclusion et perspectives**



## Conclusion

*Escherichia Coli* est souvent responsable de plusieurs infections parmi elles l'infection urinaire, le cas des souches étudiées montrant une résistance à une large variété d'antibiotiques.

Ce travail nous a permis d'atteindre les objectifs principaux :

- 1- l'identification des souches d'*Escherichia Coli*
- 2- définir et de tester le profil de résistance des souches étudiées aux différentes familles d'antibiotique.

A la lumière des résultats obtenus, la galerie classique révélant le phénotype biochimique présente certaines limites dans l'identification bactérienne et que nos souches sont résistantes à toutes les familles d'antibiotiques de Beta-lactamine et d'Aminosides sauf L'Impinem (IMP) qui est très actif sur les deux souches, donc cette résistance réside dans la faculté de certains micro-organismes à survivre et à se développer en présence d'un agent antimicrobien en dose généralement suffisante à pouvoir bactéricide ou bactériostatique sur des microorganismes de la même espèce, et de là la qualification d'*E.coli* comme étant une bactérie multi-résistante présentant une particularité remarquable puisque il avait résisté à la majorité des familles d'antibiotiques testés.

C'est ce qui doit être signalé pour permettre aux équipes soignantes de le prendre en charge dans les meilleures conditions et d'éviter la transmission de ce germe qui représente une véritable menace pour la santé publique.

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



**Références Bibliographiques**



- [1] Kariuki S, Corkill J.E .(2007). The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. *International journal of Antimicrobiol Agents* 6: 2474-2479
- [2] Iazid 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.
- [3] El brahmi redouane M. (2013). Profil épidémiologique et de résistance des bactéries multi résistantes aux CHU hassan II de Fès .thèse de doctorat. Université sidi Mohammed ben Abdallah faculté de médecine et de pharmacie Fès. 111 P.
- [4] Vallée M. (2015). Résistance aux  $\beta$  –lactamines à large spectre chez les bactéries à Gram négatif. Mémoire. Université Laval. 113 P.
- [5] Riethmuller J. (2013). La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg faculté de pharmacie.160 P.
- [6] Mendaci A, Mihoubi S. (2015). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*), Mémoire de Master, Microbiologie Générale et biologies Moléculaire des microorganismes. Université des Frères Mentouri Constantine. 62 p
- [7] Avril J.L Dabernat H, Denis F. (2000). Bactériologie Clinique. : Ellipses. 3<sup>ème</sup> Edition. 511 p.
- [8] Ben Abdallah H, Sahnoun O, et al (2005).profil de la sensibilité aux antibiotique des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monasire. *Rev Tun Infetiol*.2(2) :5-8
- [9] Avril JL, Dabernat H, Denis F (2000). Bactériologie Clinique. Paris : Ellipses : 602 p
- [10] Ndiay A. (2005).les entérobactéries sécrétrice de béta-lactamases a spectre elargie.Université Cheikh Anta diop de dakar. 65p
- [11] BAKHOUM I. (2004). Contrôle qualité et validation de différentes microméthodes D'identification bactérienne. Thèse Pharm.N °8.
- [12] Le Minor L., Veron N. (1989). Bactériologie Médicale Flam Med. Science, Paris. Pages : 318-333-773-823.
- [13] Ndoye R. (2004). Algorithme d'identification des Entérobactéries et des bacilles gram négatifs non fermentaires. Thèse Pharm. ° 83.

- [14] Entérobactéries et autres bacilles à gram négatif non exigeant. - CHUPS – Jussieu. [En ligne]. ([www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html](http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html)). (consulté le 11.2.2018)
- [15] Niandou MT. (2005). Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques. Thèse Pharmacie, Bamako <https://www.google.com/search?q=les+entèrobateries&client>
- [16] Boone D.R. Garrity G., et al.(2001) *bergey's Manuel of systematic Bacteriology : the Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. 2<sup>nd</sup> edition .721p
- [17] Levine, M. M. (1987). *Escherichia Coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, Enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent*. J Infect Dis 155:377-89
- [18] REDJEM R ET MEGHEZZI Y (2017). Place d'Escherichia Coli dans les infections nosocomiales. Mémoire master, Ecologie microbienne. Université des Frères Mentouri Constantine. Page 60
- [19] Bershe P., Gaillart J.L., Simonet M. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier. Paris P 248
- [20] Cristian C. (2008). *Microbiologie hygiène Bases microbiologiques de la diététique*. Lavoisier. Paris. P 79
- [21] Prodhomme A. (2008). Sensibilité diminuée d'Escherichia Coli aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération : étude génétique et corrélation avec l'utilisation des  $\beta$ -lactamines en thérapeutique. Thèse de doctorat. Université de Nantes faculté de pharmacie. 90 P.
- [22] PHILIPPON A. (2000). *Cours de bactériologie général : Entérobactéries*. Faculté de médecine Cochin-Port-Royal Paris, France
- [23] Bey F. (2009). Etude de l'interaction antagoniste entre Lactobacillus sp et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire. Université d'Oran Es-Senia. 109 P.
- [24] Benabdallah-Khodja A., Hamlaoui Y. (2016). Étude phénotypique de quelques souches d'Escherichia Coli productrices des carbapénèmes. Mémoire. Université des frères Mentouri Constantine. 41 P.

- [25] 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
- [26] Eudier J.P. (2011). La bactérie Escherichia Coli. [En ligne].  
<http://www.sylviesimonrevelations.com/article-la-bacterie-escherichia-coli-par-le-dr-jeanpierre-eudier-76675319.html>. (Consulté le 24/04/2018).
- [27] Hart T., Shears P. (1999). Atlas de poche de microbiologie. Flammarion Médecine-Science. Paris. 118 p
- [28] FLAUDROIS JP. (2004). Bactério Gén /croissance bactérienne. Cours de Bactériologie Médicale DCEM1UFR Médecine Lyon Sud-Laboratoire de biométrie. : 1-3-10 p.
- [29] Denis F. ; Ploy C. M.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. 335-401p.
- [30] CHU-PS Pitié-Salpêtrière. (2003). Bactériologie DCEM1.Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. Service de Bactériologie
- [31] Banacorsi S. (2007). Bactériologie médicale, Paris. 135-1
- [32] Nauciel C., Vildé J.L. (2007). Bactériologie médicale. Elsevier Masson SAS .P 122-123
- [33] Breche P., Gaillard J.L., Simonet M. (1988). Les bactéries des infections humaines. Paris. médecine-science. P 105.
- [34] Mehdi. S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE. [En ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p
- [35] B.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/.../Vol24-6Doublet.pdf>...
- [36]- Stephanie.F. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication.Universite Rennes 1.French

- [37]- Julie. B. (2014). Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2014, p11
- [38] Shacoori T. Z. (2011). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Laboratoire de Microbiologie pharmaceutique, Université de Renne, France.
- [39]- Gerard J. Tortora et al. (2011) .Introduction à la microbiologie .2eme Edition .Québec. Pearson .Edition du renouveau pédagogique INC.420-421 P.
- [40] Julie. B. (2014). Utilisation raisonnées des antibiotiques en élevage porcin, démarche d'accompagnement dans sept élevages, science vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 2014, p11
- [41]- Cattoen.C. (2015). Persistance du portage de bactéries multi résistantes après la réanimation. 2 p. Disponible sur : [link.springer.com/content/PDF/10.1007/s13546-015-10484.pdf](https://link.springer.com/content/PDF/10.1007/s13546-015-10484.pdf)
- [42]- Nouri. M, Ziadi.C. (2015). étude bactériologique et résistance aux antibiotique de *klebsiella pneumonie*. Génétique moléculaire, université des frères mentouri Constantine. P 4
- [43]- Sekhri. A. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Ben Badis de Constantine. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences. Année universitaire: 2010-2011
- [44] Boukhatem L. (2013). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen. Mémoire de master, microbiologie. Université aboubekr belkaid tlemcen. 86 p
- [45] Mme DIAKITE Oumou K. (2010). Etude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires. Obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat), la faculté de Médecine, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. 109 p
- [46] Stora D. (2013). Pharmacologie et thérapeutique 2e édition. Lamarre. France. 90- 91p.
- [47] Mehdi. S. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE. [En ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : université Mohammed v faculte de médecine et de pharmacie, 48-51p.

- [48] Ghouli A., Senoussi A. (2015).activité biologique des diazépines synthétisés du Phosphore florique. Mémoire. Université Kasdi Merbah Ouargla. 49 P.
- [49] 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 11-04-2018).
- [50] 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](http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/antibiotiques-contre-bacteries?part=3)>. (Consulté le 11/04/2018).
- [51] BEN HAJ KHLIF A et KHEDHER M. (2010). Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar de Mahdia. Rev. Tun. Infect. p 57-61.
- [52] D.Yalaet al. (2001). CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES. Médecine du Maghreb, n°91.
- [53] 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](http://reflexions.ulg.ac.be/cms/c_12956/antibiotiques-contre-bacteries?part=3)>. (Consulté le 11/04/2018).
- [54] Boulahbal F. microbiologie s1 clinique .Ben aknoun (Alger).office des publications universitaires. P 126
- [55] Ferech, M., and Coenen, S. (2006). "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe". J Antimicrob Chemother. 58(2): 401-407.
- [56] Livermore, D.M. (1995). "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." ClinMicrobiol Rev. 8(4): 557-584.
- [57] <https://www.google.fr/search?q=Structures+de+quelques+β-lactamines&tbm>
- [58] Caillon J. (2007). Lecture et interprétation de l'antibiogramme
- [59] Toure F. (2004). Résistance aux bêta-lactamines de souches bactérienne isolées d'hémoculture au CHU A.LE DANTEC. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie.

- [60] Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E., (2004). Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses. 1: 129-202.
- [61] Gerard, I et al. (2003). Introduction à la microbiologie, pp.608-612.
- [62] Courvalin, P., Drugeon, H., Flandrois, J.P., Goldstein, F., (1991). Bactericidie: aspect théoriques et thérapeutiques ; édition maloine. Pages, 13, 14, 23, 26
- [63] Wolff M., Joly-Guillou M-L et Pajot O. (2008). Le point sur les carbapénèmes. Réanimation (2008) 17,242-250
- [64] Bryskier A. (1999). Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. Ellipses ; Paris.p :54- 436-445.
- [65] Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode D'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb n°91
- [66] Oulymata G. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a gram négatif. Thèse doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 120p.
- [67] Kouta K. (2009). Infections urinaires chez les diabétiques adultes. Université Kasdi Merbah Ouargla. 76p.
- [69] Dellarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. France. Lavoisier. 462 p
- [70] Souna D. (2011). Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.127p.
- [71] Filali, B.K et Al. (2000). Waste water bacterial isolates resultat to heavy metals and antibiotics current microbiology
- [72] P. Nordmann, A. Carrer. (2010). Carbapenemases in enterobacteriaceae. Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. Archives de Pédiatrie. 154-162P.

A decorative border with intricate scrollwork and floral motifs, centered on the page. The border is white and has a slight shadow effect, giving it a three-dimensional appearance. It frames the central text.

# **Les Annexes**

**Annexe 1:** Composition des milieux de cultures

<b>Milieux de culture</b>	<b>Composition</b>	
<b>Mueller Hinton</b>	Infusion de viande de bœuf	300,0 g /l
	Hydrolysate de caséine	17,5 g /l
	Amidon	1,5 g /l
	Agar	17,0 g /l
	Eau distillée (qsp)	1L
<b>Gélose Hektoën</b>	Protéose peptone	12g
	Extrait de levure	3g
	Chlorure de sodium	5g
	Thiosulfate de sodium	5g
	Sels biliaires	9g
	Citrate de fer III et d'ammonium	1,5g
	Salicine	2g
	Lactose	12g
	Saccharose	12g
	Fuschine acide	0,1g
	Bleu de bromothymol	0,065g
	Agar	14g
	Eau distillée (qsp)	1000mL
<b>citrate de simmons</b>	Sulfate de Mg	0,2 g/l
	Phosphate monoammoniaqué	1g/l
	Phosphate bipotassique	1g/l
	Citrate de sodium	2g/l
	NaCl	5g/l
	Bleu de bromothymol	0,08g/l
	Agar	15g/l
	pH	6,8

<b>TSI : Triple SugarIron Agar</b>	Peptones de caséine	15 g /l
	Peptones de viande	5 g /l
	Extraits de viande	3 g /l
	Peptones de levure	3 g /l
	NaCl	5 g /l
	Lactose	10 g /l
	Saccharose	10 g /l
	Glucose	1 g /l
	Citrate ammoniacal de Fer (III)	0,5 g /l
	Thiosulfate de sodium	0,5 g /l
	Rouge de phénol	0,024 g /l
	Agar	12 g /l
<b>Urée-indole</b>	Tryptophane	3g/L
	Urée	20g/l
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g/l
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g/l
	NaCl	5g/l
	Alcool à 95°	10 mL
	Rouge de phénol	2,5 mL
<b>Mannitol-Mobilité-Nitrate</b>	Hydrolysats tryptique de caséine	10g
	Mannitol.	7,5g
	Rouge de phénol	0,04g
	Nitrate de potassium	01g
	Agar	3,5g
	pH =	7,6

## Annexe 2 : Les réactifs et les colorants utiliser

<b>Réactif de kovacs</b>	Para dimethylamino benzaldehyde	0,5 g
	Alcool iso anylique	75 ml
	Acide chlorhydrique	25 ml
<b>Violet de Gentiane</b>	Violet de Gentiane	10 g
	Phénol	20 g
	Éthanol (90 °GL)	100 ml
	Eau distillée	1L
<b>Lugol</b>	Iodure de potassium	2 g
	Iode métalloïde I	2 1 g
	Eau q.s. ad	100 g
	q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"	
<b>Fuchsine</b>	Fuchsine basique	10 g
	Phénol	50 g
	Éthanol	100 mL
	Eau distillée	1 L

Année Universitaire

Présenté et soutenu par: Achi Sarah

2017 – 2018

Lalouatni Borhane

**THEME : Etude phénotypique des souches  
Escherichia Coli multi-résistantes**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de master en Ecologie Microbienne

**Résumé**

L'importance de la microbiologie n'est plus à prouver, c'est une connaissance approfondie des microorganismes et plus précisément des bactéries. Dans notre recherche on a mis l'accent sur une bactérie à Gram négatif de forme bacillaire où on a identifié et étudié le phénotype de résistance de deux souches *d'E. Coli* multi résistantes, grâce à la méthode diffusion des disques sur le milieu gélosé Mueller Hinton pour mettre évidence la résistance aux bêta-lactamines et aux Aminosides. On a obtenu des souches BLSE a un haut niveau de résistance aux bêta-lactamines et aux Aminosides sauf à l'Imipenème qui est très actif sur les deux souches, cette résistance est expliquée par la production des enzymes responsables de l'inactivation de ces antibiotiques tels que les bêta-lactamases et les carbapénémases ainsi que les enzymes des Aminosides, O-phosphotransférases (APH), nucléodyltransférases (ANT) et N-acétyltransférases (ACC). Une mise à jour d'Antibiogramme pour ce genre de bactérie (BLSE) est nécessaire pour son contrôle afin d'obtenir un meilleur traitement contre les infections urinaires.

**Les mots clé:** Escherichia Coli, multi résistance, phénotype, beta lactamine, aminoside.

**Laboratoire de recherche : laboratoire de bactériologie – centre hospitalier universitaire Constantine**

**Jury d'évaluation :**

**Président:** Mlle Abdelaziz W. MAA-UFM Constantine

**Encadreur:** Mlle Meziani M. MAA-UFM Constantine

**Examineur:** Mlle Almi H. MCB-UFM Constantine

**Date de soutenance : Le 19/06/2018**