

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Microbiologie

Mémoire présenté

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des microorganismes.

Thème

Etude comparative de la résistance aux antibiotiques d'*E. coli* souches isolées des eaux usées des coprocultures et des urines

Présenté par :

SERARBA ZAHRA

Jury d'évaluation

Président de jury : Mr. HAMIDCHI M. A. Professeur Université Constantine 1

Encadreur : Mme BOUZERAIB L. Maitre assistante Université Constantine 1

Examineur: Mr. CHABBI R. Maitre assistant Université Constantine 1

Année universitaire

2013-2014

Nous exprimant tout d'abord, nos profonds remerciements et louanges à DIEU tout puissant, qui nous à guidées sur le droit chemin et nous à donnés le courage et la volonté d'achever ce travail.

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire de master a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Université Mentouri de Constantine1.

Nous remercie également notre directeur de mémoire Mme BOUZERAIB. L pour sa confiance et sa patience.

Nos vifs remerciements vont, également, a tous les membres du jury d'avoir accepté de lire ce manuscrit et d'évaluer ce modeste travail.

Le Président de jury : Mr HAMIDCHI M.A.

Et l'examineur : Mr CHABB R.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma mère :

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer
l'immense amour que je te porte. C'est grâce à tes
encouragements que j'ai pu franchir les obstacles de la
vie. J'espère que tu es fière de moi en ce jour de
consécration.*

*A mon tendre marie Imad qui est toujours tout près de
moi, pour me soutenu et m'encouragé.*

*A mon Bébé qui m'a accompagné tout au long de
l'année.*

A toute ma famille.

A tous mes collègues de promotion

Asma S, Lilia D, Marwa K, Mimosa, Ryma H

A tous ceux que j'aime.

SERARBA Zahra

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction 01

Revue bibliographique

1. Caractères Généraux 03

1.1 Définition 03

1.2. Habitat 03

1.3. Classification 04

2. Caractères bactériologique 04

2.1 Caractères morphologiques et cultureux 04

2.2 Caractères biochimiques 04

2.3 Caractères sérologiques 04

2.3.1 Les antigènes somatiques O 05

2.3.2 Les antigènes flagellaires H 05

2.3.3 Les antigènes de surface ou d'enveloppe K 05

3. Résistance aux antibiotiques 06

3.1 Définition de la résistance bactérienne 06

3.2 Résistance naturelle 06

3.3 Résistance acquise 07

3.3.1 Les pénicillinases plasmidiques 07

3.3.2 Une enzyme dite TRI 08

3.3.3 Les Céphalosporinase 10

3. 4 β -lactamases à spectre élargi 11

4-Pouvoir pathogène d'*E. coli* 12

4.1 Définition des facteurs de virulence 12

4.2 Les éléments mobiles de pathogénicité 12

4.2.1 Les phages	12
4.2.2 Les transposons	12
4.2.3 Les îlots de pathogénicité	12
4.2.4 Les plasmides	13
4.3 Les principaux facteurs de virulence intervenante dans le pouvoir pathogène d' <i>E. coli</i>	13
4.3.1 La capsule	13
4.3.2 Les systèmes de captation du fer	13
4.3.3 Les facteurs d'adhésion	13
4.3.4 Les hémolysines	14
4.3.5 Les toxines	14
4.4. Les différents pathovars d' <i>E. coli</i>	14
4.4. 1 Caractéristiques des pathovars à l'origine des infections intestinales	14
4.4.1.1 Les <i>E. coli</i> Entérotoxigènes (ETEC)	15
4.4.1.2 Les <i>E. coli</i> Entéropathogènes (EPEC)	15
4.4.1.3 Les <i>E. coli</i> Entéroaggrégatifs (EAEC)	15
4.4.1.4 Les <i>E. coli</i> Entéroinvasifs (EIEC)	15
4.4.1.5 Les <i>E. coli</i> à adhésion diffuse (DAEC)	15
4.4.1.6 Les <i>E. coli</i> Entérohémorragiques (EHEC)	16
4.4.2 Caractéristiques des pathovars à l'origine des infections extra intestinales	17
4.4.2.1 Les <i>E. coli</i> responsable de méningites néonatales (NMEC)	17
4.4.2.2 Les <i>E. coli</i> uropathogènes (UPEC)	17

Matériels et méthodes

1. Matériels et Méthodes	18
1.1 Matériels	18
1.1.1 Souches utilisées	18
1.1.2 Matériel utilisé	19
1.1.3 Milieux utilisés	19
1.1.4 Réactifs	
1.2 Méthodes	19
1.2.1 Isolement sur milieu solide	20
1.2.2 Identification par galerie biochimique classique	20
1.2.3 Etude de la sensibilité d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques	22

Résultats

1. Identification des souches d'<i>E. coli</i>	24
1.1 Aspect macroscopique	24
1.2 Aspect microscopique	24
1.3 Résultats biochimiques	24
1.4 l'antibiogramme	27
<i>Discussion</i>	34
<i>Conclusion</i>	36
<i>Références bibliographiques</i>	37
<i>Annexes</i>	

Liste des figures

Figure 1	Résistance naturelle aux antibiotiques	06
Figure 2	Résistance acquise (β -lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase)	07
Figure 3	Resistance acquise (β -lactamase de classe A haut niveau (TEM1))	08
Figure 4	β -lactamase de classe A TRI	09
Figure 5	β -lactamase de classe A à spectre étendu	09
Figure 6	β -lactamase de classe A à spectre étendu TEM-3	10
Figure 7	β -lactamase de classe A à spectre étendu SHV5	10
Figure 8	Hyperproducteur de β -lactamase de classe C (céphalosporinase)	11
Figure 9	Restauration de l'activité de l'amoxicilline et des céphalosporines par le BRL4215	11
Figure 10	Pathogénies associées aux 6 classes d' <i>E. coli</i> responsables de diarrhées	
Figure 11	Aspect macroscopique des colonies d' <i>E. coli</i>	24
Figure 12	Aspect microscopique (coloration de Gram) d' <i>E. coli</i>	24
Figure 13	Histogramme de pourcentage de la résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques des souches isolées des eaux usées n=9.	27
Figure 14	Histogramme de pourcentage de la résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques des souches isolées des urines n=68.	28
Figure 15	Histogramme de pourcentage de la résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques souches isolées des coprocultures n=47.	30
Figure 16	Histogramme de pourcentage de la résistance d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques souches isolées des (Eaux usées, Urines, coprocultures).	31

Liste des tableaux

Tableau 1	Subdivisions hiérarchiques de classification d' <i>E. coli</i> (bergey's, 2001).	
Tableau 2	Principaux critères différentiels des espèces du genre <i>Escherichia</i> .	
Tableau 3	Caractères biochimiques d' <i>E. coli</i> .	
Tableau 4	Les résultats d'identification biochimique des deux souches	25
Tableau 5	Le profil de résistance des souches aux antibiotiques des deux souches	26
Tableau 6	Résultats de l'antibiogramme des 9 souches d' <i>E. coli</i> isolées des eaux usées	27
Tableau 7	Résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques n=68 échantillon urines.	28
Tableau 8	Résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques n=47 isolées des coprocultures	29
Tableau 9	Résistance des souches d' <i>E. coli</i> n=124 isolées des trois sources (Eaux usées, Urines, coprocultures).	30

Liste des abréviations

ADH	: Arginine Dihydrolase
LDC	: Lysine Décarboxylase
ODC	: Ornithine Décarboxylase
ONPG	: Orthonitrophenyl Galactoside
ADN	: Acide Désoxyribo-Nucléique
AMX	: Amoxiciline
AMC	: Amoxiciline+Acide clavulanique
TIC	: Ticarciline
PIP	: Piperaciline
CZ	: Céfalozone
FOX	: Céfoxitine
CTX	: Céfotaxime
IPM	: Imipénème
FOS	: Fosfomycine
GN	: Gentamycine
AN	: Amikacine
NA	: Acide Nalidixique
CIP	: Ciprofloxacine
SXT	: Sulfaméthoxazole+Triméthoprime
Cs	: Colistine
C	: Chloramphénicol
TZP	: Piperacilline+Tazobactam
TCC	: Tétracycline
PEF	: Pefloxacine
NF	: Nitrofurantoïne
CLSI	: Clinical laboratory standards institue

Résumé

Résumé

L'objectif de cette présente étude est de caractériser deux souches d'*E. coli*, isolées des eaux usées de oued Boumerzoug, sur le plan morphologique, cultural et biochimique et de déterminer leur comportement vis-à-vis des antibiotiques puis réaliser une étude comparative de la sensibilité aux antibiotiques les plus utilisées en thérapeutique, de 124 souches d'*E. coli* isolées de diverses sources dont: coprocultures (47), urines (68) et eaux usées (9), afin de préciser l'importance de cette bactérie en terme de santé publique.

Les résultats montrent que les deux souches ont bien cultivé sur milieux de culture sélectifs EMB à 37°C et présentent les caractéristiques suivantes: petits bacilles à Gram négatif ,oxydase +catalase- ,glucose+, lactose+,gaz-,H₂S-, uréase- , indole + , réduisant les nitrates en nitrites RM+et VP-, mannitol+, mobilité+ , n'utilisant pas les citrates comme seule source de carbone.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a été déterminée, par la méthode de l'antibiogramme standard préconisé par le CLSI des souches étudiées, fait apparaitre d'importantes résistances vers plusieurs antibiotiques. Toutes les souches ont présenté une résistance de 100% aux β -lactamines à savoir : l'Amoxicilline(AMX), Amoxicilline+acideclavulanique (AMC), Piperacilline (PIP) et à la Céfazoline (CZ).

L'efficacité des aminosides (Gentamicine,Amikacine)et des quinolones(Ciprofloxacine) reste très satisfaisante pour les souches isolées des eaux usées par contre ces antibiotiques sont inactifs sur les souches isolées des coprocultures et des urines .

Au terme de cette étude nous rappelons l'utilisation rationnelle des antibiotiques en médecine et une surveillance de l'antibiorésistance des *E. coli* dans l'environnement.

Mots clés : β -lactamines, antibiotiques, résistance aux antibiotiques, *Escherichia coli*

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد خصائص سلالتين من *E. coli* بكتيريا قولونية معزولة من مياه الصرف الصحي (وادي بومرزوق) على الصعيد المورفولوجي و البيوكيميائي و تحديد سلوكهم بالنسبة للمضادات الحيوية ثم إجراء دراسة مقارنة لحساسية المضادات الحيوية الشائعة الإستخدام في الميدان العلاجي ل124 سلالة تم عزلها من عدة مصادر مختلفة (68)urines, (47)coprocultures و(9)eaux usées من أجل تحديد أهمية هذه البكتيريا من حيث الصحة العامة.

بينت النتائج أن السلالتين قد نمت جيداً فوق وسط إنتقائي EMB في درجة حرارة 37 درجة مئوية و لها الخصائص التالية , -oxydase , catalase+, glucose+, lactose+, gaz-, H₂S-, uréase- , petits bacilles à Gram négatif , لا تستعمل citrate+, indole + , réductant les nitrates en nitrites, RM+et VP-, mannitol+, mobilité+.

كمصدر وحيد للكربون

تم تحديد مقاومة المضادات الحيوية للسلالات المدروسة عن طريق الأسلوب الدراسي الذي أوصت به CLSI حيث أظهرت النتائج مقاومة بنسبة مهمة لجميع المضادات الحيوية

أظهرت جميع السلالات مقاومة (100%) ضد عائلة β -lactamines بالنسبة ل : (AMC), (AMX), (PIP), و(CZ).

و تبقى فعالية الaminosides و quinolones مرضية بالنسبة للسلالات المعزولة من مياه الصرف الصحي , بينما تبقى غير فعالة فيما يخص السلالات المعزولة من coprocultures و urines .

الكلمات المفتاحية: β -lactamine, مضاد حيوية, مقاومة المضادات الحيوية, *Escherichia coli*.

Abstract

The purpose of this study is to characterize two strains of *E.coli* ,isolated from the waste water of Oued Boumerzoug, Morphologically, culturally biochemically and to determine their comporment against some antibiotics then, to realize a comparative study about their sensibility to the most used antibiotics in therapeutic.

124 strains of *E. coli* were isolated from diverse sources which: stools (47),urines (68), sewage (9) in order to precise the importance of this bacteria in terms of the public health.

The results show that both strains have well grown in the selective culture media and present the following characteristics: Gram négatif ,oxydase +,catalase- ,glucose+, lactose+,gaz-,H₂S-, uréase- , indole + , RM+ and VP-, mannitol+, motility+, reducing nitrates to nitrites not using the citrates as a single source of Carbon

The study of the resistance to antibiotics has been determined with the method recommended by the CLSI of the studied strains it shows important resistance to many antibiotics. All strains have presented a resistance of (100 %) for β -lactamines to Amoxiciline (AMX),amoxicilline+acide clavulanique(AMC),Piperaciline(PIP) andCéfazoline(CZ).

The efficiency of aminosides (Gentamicine,amikacine) and quinolones (ciprofloxacine) still very satisfactory for the isolated strains from the sewage in the other side these antibiotics are inactive on the isolated strains

At the end of this study we remind of the rational use of antibiotics in medicine and the surveillane of in the environment

Key words: β -lactamines, resistance to antibiotics, antibiotics, *Escherichia coli*

Introduction

Introduction

E.coli est un bacille Gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae, représentant un grand groupe hétérogène de bactéries dont l'habitat est le tractus intestinale des humains et des animaux.

E.coli est une espèce au sein de laquelle on retrouve à la fois des souches commensales, colonisant les individus sains, et des souches ayant acquis des facteurs de virulence, ces souches sont capables d'induire plusieurs pathologies.

Cette bactérie généralement sensible aux antibiotiques, a acquis au fil des années des mécanismes de résistance aux antibiotiques.

La présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale dans les eaux usées pose d'importants problèmes sanitaires quand ces eaux sont utilisées pour la production d'eau potable pour la consommation et l'irrigation. Les maladies infectieuses causées par ces bactéries sont traitées depuis de nombreuses années, grâce à l'emploi d'antibiotiques.

En effet les eaux usées transportent toutes sortes d'organismes pathogènes ; les *E.coli* sont parmi les pathogènes retrouvés dans les eaux usées et sont considérées à l'heure actuelle comme des pathogènes en santé publique.

Cependant l'usage croissant et massif d'antibiotiques a induit une certaine résistance des bactéries envers ces substances. Les antibiotiques sont utilisés en médecine humaine mais également intensivement en médecine vétérinaire et aussi comme complément alimentaire dans l'élevage. On rencontre couramment des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les milieux où les antibiotiques sont utilisés mais aussi dans les eaux.

Ce phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques est devenu un problème alarmant.

L'étude de ce phénomène est réalisée, en analysant la résistance aux antibiotiques de souches d'*E. coli* à partir de divers échantillons (eaux usées, urines et coprocultures (origine humaine)) ; en effet cette espèce appartenant au groupe des coliformes fécaux, est utilisée comme indicateur de contamination fécale.

La connaissance et la maîtrise de cette résistance permettront d'améliorer la prise en charge de ces antibiotiques en thérapeutique.

Le but de notre travail est :

- De caractériser sur le plan morphologique, structural et cultural de deux souches présumées *E.coli* isolées des eaux usées.

- D'étudier la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques et réaliser une étude comparative de 124 souches d'*E. coli* provenant de diverses sources :des eaux usées ,des urines et des coprocultures.

*Revue
bibliographique*

1. Caractères Généraux

1.1 Définition

C'est en 1885 que la bactérie *Escherichia coli* est décrite pour la première fois dans des selles de nourrissons, par l'Allemand Theodor Escherich. Toutefois son nom actuel lui est donné en 1919 par Castellani et Chambers^[1]

Le genre appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, qui doit son nom à leur isolement fréquent du tube digestif et/ou des fèces des mammifères^[2]. Les entérobactéries sont une vaste famille de bactéries qui sont rencontrées tous les jours en bactériologie médicale.

Le terme *Enterobacteriaceae* vient de deux mots grecs : Enteron (intestin) et baktéron (petit bâton), il signifie bacille intestinal^[3].

E.coli est une bactérie généralement commensale, mais certaines souches peuvent être ou devenir pathogène et vont alors entraîner gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites et même des septicémies^[4]

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E.coli*, *E.fergusonii*, *E.hermannii*, *E.vulneris* et une cinquième très rare qui a été isolé de blattes, d'où son nom *E.blattae*. Ces espèces sont bien différenciables les unes des autres sur la base des résultats des hybridations ADN/ADN, et par des caractères phénotypiques particuliers^[1]. (**Tableau 2**)

1.2. Habitat

Les entérobactéries sont présentes dans nombreux écosystèmes, en particulier l'intestin qui lui a donné son nom mais aussi dans l'environnement (eau, sol). Elles peuvent être saprophytes, commensales ou pathogènes. Le cas d'*E.coli* est typique puisque cette bactérie est retrouvée dans les eaux souvent en provenance d'une contamination fécale, dans l'intestin.^[2]

Cependant, bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales^[5] ou extra-intestinales^[6], très

diverses chez l'homme. Comme la plupart des pathogènes des muqueuses, les souches d'*E. coli* pathogène utilisent une stratégie d'infection dont les points clés sont la colonisation des muqueuses, éventuellement l'invasion des cellules, la multiplication, l'évasion des défenses de l'hôte et les dommages à l'hôte. La détermination des combinaisons de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche, les modes d'infection et les signes cliniques de l'infection, constitue un moyen de typage d'*E. coli* que l'on désigne sous le néologisme de pathotype ou pathovar^[7].

1.3. Classification de l'espèce *E. coli*

Historiquement l'espèce *E. coli*, faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, a été déterminée à partir de caractères phénotypiques, biochimiques et physiologiques. Aujourd'hui ce sont des techniques basées sur l'utilisation de l'ADN qui permettent une étude génétique des populations et la caractérisation des différentes souches d'*E. coli*.^[8] (Tableau 1)

2. Caractères bactériologique

2.1 Caractères morphologiques et culturels

E. coli ou colibacille est une bactérie a sporulée mesurant 2 à 4 µ De long sur 0,4 à 0,6 µ de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche .Ce germe non exigeant, sur gélose ordinaire donne des colonies lisses, brillantes et homogènes^[13].

2.2 Caractères biochimiques

E. coli possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries.

Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. Ces caractères sont regroupés dans le (Tableau 3).

2.3 Caractères sérologiques

Ces sérotypes sont définis selon leurs antigènes somatiques O , capsulaire K(80) et flagellaires H (56).

De plus, K sont subdivisés en types A, B ou L .Le type B est rencontré exclusivement dans les souches associées aux diarrhées infantiles ^[14] .

2.3.1 Les antigènes somatiques O

Les antigènes O somatiques sont de nature lipopolysaccharidique et sont situés sur la membrane externe des bactéries à Gram-négatif. Le lipopolysaccharide (LPS) est formé de 3 Parties: le lipide A (relativement conservé chez *E. coli* et intégré dans la membrane externe), la région centrale et enfin une chaîne polysaccharidique variable, l'antigène O, qui est composée d'unités répétées comprenant de 2 à 7 sucres ^[15] .

Les différences antigéniques des chaînes spécifiques sont liées soit à la nature des sucres qui composent le chaînon répété soit à leur mode de liaison. La détermination de l'antigène O par des sérums montre l'existence de réactions croisées avec les LPS d'autres bactéries Gram- négatif ^[16] . La majorité des enzymes intervenant dans les différentes étapes de la biosynthèse de l'antigène O sont codées par des gènes regroupés en général sur le chromosome au niveau du locus *rfb*. La recherche de ces gènes par PCR est généralement usitée pour déterminer le sérotype de ces bactéries. Les techniques de biologie moléculaire permettent aussi de sérotypifier les mutants incapables de synthétiser l'antigène O dénommés OR, pour « O rough» ^[17] .

2.3.2 Les antigènes flagellaires H

Chez *E. coli*, les flagelles sont constitués de trois parties : un corpuscule basal, un crochet et un filament hélicoïdal formé d'un assemblage de flagelline. Plus de 40 gènes répartis principalement dans 4 clusters sont impliqués dans la formation et le fonctionnement du flagelle. La flagelline, immunogène et constituant l'antigène H est généralement codée par le gène *fliC*. Chez *E. coli*, les parties N-terminale et C-terminale de la flagelline sont conservées, tandis que la partie centrale, exposée à l'environnement, est hautement variable ^[13] . Cette diversité proviendrait des transferts horizontaux et des recombinaisons d'ADN étranger qui généreraient de nouveaux allèles de *fliC* et ainsi de la diversité antigénique ^[18] . Les souches d'*E. coli* dans l'incapacité de synthétiser un flagelle fonctionnel sont classées comme non-mobiles (NM).

2.3.3 Les antigènes de surface ou d'enveloppe K

Il existe 3 types d'antigènes K désignée par les lettres L, A ou B

- **L'antigène L** est le plus fréquent mais est 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** est rare ; c'est un antigène capsulaire (*E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- **L'antigène B** est toujours présents chez *E. coli* enthéropathogènes de gastro-entérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure. à 100°C, il reste toujours de L'antigène B mais L'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe, la fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) [19].

3. Résistance aux antibiotiques

3.1. Définition de la résistance bactérienne :

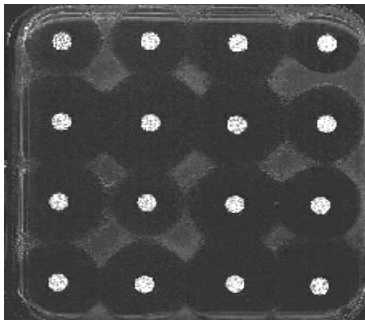
La résistance bactérienne se définit Comme la capacité d'une bactérie à croître ou de survivre en présence de l'antibiotique.

Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant.

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis, on distingue la résistance naturelle de la résistance acquise. La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique [20].

3.2 Résistance naturelle

E.coli est une entérobactérie, comme toutes les entérobactéries elle présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G. Elle appartient avec *Proteus mirabilis*, *Salmonella*, *Shigella*, au groupe 1 des entérobactéries. Toutes ces espèces sont naturellement sensibles à l'ensemble des β lactamines. Toutefois comme *Shigella*, *E.coli* produit à très bas niveau une céphalosporinase chromosomique qui ne se traduit en pratique par aucun phénotype particulier^[21].



FOS	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
TZP	CAZ	ATM	CIP

Figure 01 : Résistance naturelle aux antibiotiques^[22]

Souches sensibles à tous les bêta-lactamines, malgré la présence d'une céphalosporinase chromosomique d'espèce de classe C qui est exprimée à très bas niveau (présente mais non détectable, exemple : *E.coli* figure01)

3.3. Résistance acquise

Certaines souches ont acquis de nouveaux phénotypes de résistance leur permettant d'échapper aux antibiotiques. Ces mécanismes sont de trois ordres différents :

- Diminution de la quantité antibiotique atteignant la cible par diminution de la perméabilité ou par apparition de systèmes d'efflux.
- Modification de la cible de l'antibiotique soit par une mutation soit par acquisition de gènes exogènes.
- Inactivation de l'antibiotique, c'est le mécanisme le plus fréquent. Il peut s'agir d'une destruction de l'antibiotique, ou d'une modification de la molécule par ajout de radicaux.

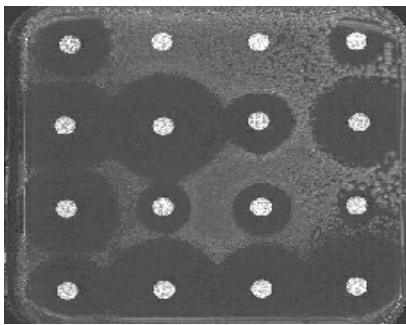
Dans le cas d'*E. coli* et de la résistance aux β lactamines est due à une inactivation de l'antibiotique par l'acquisition d'enzymes, 3 principaux types d'enzymes doivent être connus :

3.3.1 Les pénicillinases qui sont plasmidiques.

Elles peuvent être de bas niveau et donc responsables d'une résistance aux aminopénicillines ,aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, ou de haut niveau et donc responsables d'une résistance non seulement aux 3 antibiotiques cités mais aussi aux molécules possédant des inhibiteurs de β lactamases ainsi qu'au céphalosporines de première et deuxième génération.^[21]

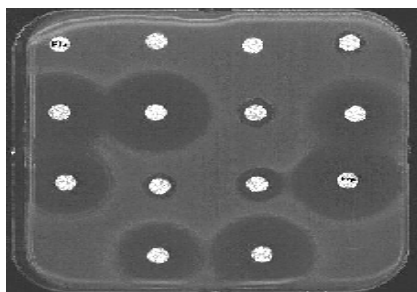
✓ **Bêta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase)**

Résistance haut niveau à AMX, TIC ; inhibition de l'activité enzymatique par l'acide clavulanique (activité de AMC et TCC > AMX et TIC) ; activité réduite pour les uréidopénicillines (PIP) et les C1G (CF) et les C2G (MA) (exemple : *E. coli* figure 02, *E. coli* figure ,03). En milieu hospitalier, 50 % des souches de *E. coli* produisent une pénicillinase.^[21]



FOS	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
TZP	CAZ	ATM	CIP

Figure 02 : Résistance acquise (bêta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase)).^[22]



Escherichia coli TEM-1
pénicillinase

PIP	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	

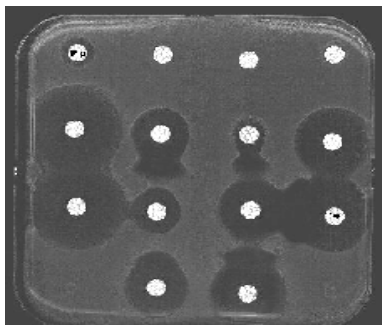
Figure 03 : Resistance acquise (beta-lactamases de classe A haut niveau (TEM1))^[22]

3.3.2 Une enzyme dite TRI (pour TEM résistant inhibiteur)

Qui hydrolyse non seulement le cycle β - lactams mais aussi l'inhibiteur des β -lactamases et qui sera donc responsable d'une résistances aux amionpénicillines , aux uréidopénicillines, aux carboxypénicillines et aux inhibiteurs de β .lactamases.^[21]

✓ **Bêta-lactamase de classe A TRI (pénicillinase TRI)**

Même phénotype que *E. coli* pénicillinase haut niveau, excepté la résistance haut niveau à AMC et TCC (pas d'activité d'inhibition de l'acide clavulanique) (exemple : *E. coli* figure 04). En milieu hospitalier, on peut trouver jusqu'à 5 % des souches de *E. coli* résistantes au clavulanate.^[21]



Escherichia coli SHV-3

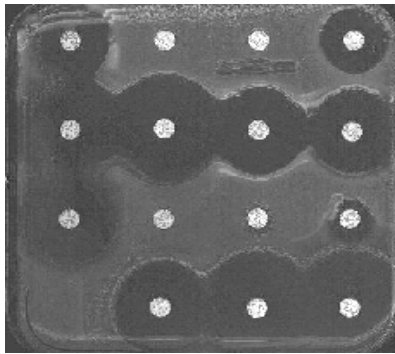
FOS	AMS	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	CIP

Figure 04 : Beta-lactamase de classe A TRI. ^[22]

✓ **Bêta-lactamase de classe A à spectre étendu**

Résistance à l'ensemble des pénicillines et céphalosporines, en particulier aux C3G (CTX, CAZ) et aux monobactames (ATM). L'activité des céphamycines et de l'imipénème n'est pas modifiée. Une image de synergie (inhibition de l'activité enzymatique par l'acide clavulanique) est souvent détectée entre les C3G et AMC ou TCC (exemple : *E.coli* figure 05) .^[22]

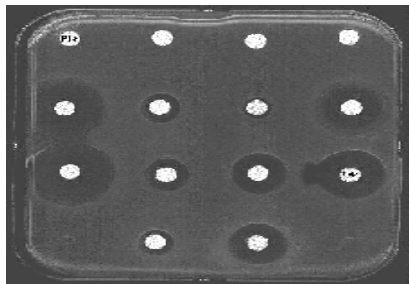
PIP	AMX	TIC	CF
------------	------------	------------	-----------



MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	

Figure 05 : Béta-lactamases de classe A à spectre étendu.^[22]

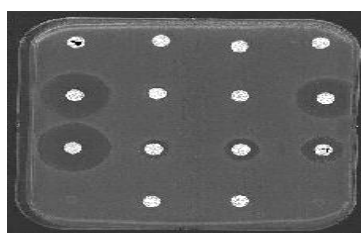
Lorsque le niveau d'expression de l'enzyme est trop élevé, l'image de synergie est plus difficile à mettre en évidence (exemple : *E. coli* figures (06 ,07)).^[22]



Escherichia coli TEM-3

PIP	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	

Figure 06 : Béta-lactamases de classe A à spectre étendu TEM-3^[22].



Escherichia coli SHV-5

PIP	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	

Figure 07 : Béta-lactamases de classe A à spectre étendu SHV5^[22].

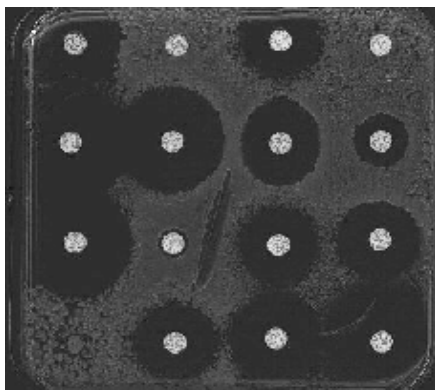
3.3.3-Les Céphalosporinase

E.coli possède une céphalosporine chromosomique qui contrairement aux *Enterobacter* est rarement dé- réprimée. Toutefois comme toutes les entérobactéries *E. coli* peut acquérir

une céphalosporinase plasmidique appelée β les (β - lactamases à spectre étendu) qui est responsable d'une résistance à toutes les β lactamines à l'exception de l'imipénème [21].

✓ **Hyper producteur de Bêta-lactamase de classe C (céphalosporinase)**

Résistance à AMX mais les carboxypénicillines (TIC) et les acyluréidopénicillines (**PIP**) restent actives. Pas d'inhibition par le clavulanate \Rightarrow résistance à AMC mais TCC reste actif. Résistance de haut niveau aux C1G (CF). Activité toujours diminuée (voir résistance de haut niveau) aux céphalycines (FOX). L'activité des C2G, des C3G est légèrement diminuée, celle de l'imipénème (IP) reste normale (exemple : *E. coli* figure ?). On peut noter que l'activité de l'amoxicilline et des céphalosporines peut être restaurée en présence de BRL4215 qui est un inhibiteur puissant des bêta-lactamases de classe C (exemple : *E. coli* figure 08). [22]

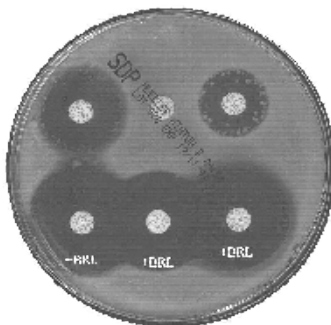


FOS	AMX	TIC	CF
MOX	CTX	MA	FOX
IPM	AMC	TCC	PIP
	CAZ	ATM	CIP

Figure 08: Hyper producteur de Bêta-lactamase de classe C (céphalosporinase) [22].

Escherichia coli hyperproducteur de céphalosporinase de classe C

Mica en Aoutane (par la BRL4215 (10 microg/diaque))



TIC	CF	FOS
TIC+BRL	CF+BRL	FOS+BRL

Figure 09 : Restauration de l'activité de l'amoxicilline et des céphalosporines par le BRL4215. [22]

Matériels

et

Méthodes

- Lieu de travail

Notre étude à été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie d'UC1 et au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital pédiatrique d'El Mansourah, Constantine.

- Objectif de cetteétude

- De caractériser sur le plan morphologique, structural et cultural de deux souches présumées *E. coli* isolées des eaux usées.

- D'étudier la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques et réaliser une étude comparative de 124 souches d'*E. coli* provenant de diverses sources :des eaux usées , des urines et des coprocultures.

-Durée de l'étude

Notre travail s'est étalé sur une période de 3 mois (Février- Avril) de l'année 2014.

1. MatérielsetMéthodes

1.1. Matériels

1.1.1 Souchesutilisées :

Les souches bactériennes étudiées représentent un totale de 124 souches d'*E.coli* qui ont été isolées de divers produits (eaux usées, coproculture, urines).

- 2 Souches présumées *E. coli* sont soumise à l'étude
- 7 Souches ont été isolées des eaux usées et déjà identifiées. (année 2013). [63]
- 47 Souches des coproculture, prévenant des patients de CHU. (année2011).[62]
- 68 Souches isolées des urines ont été identifiées au niveau de l'hôpital CHU (année2011).[64]

Dans cette étude seulement 2 souches ont été caractérisées au niveau de notre laboratoire.

1.1.2 Matériel utilisé :

- ✓ Incubateur réglé à 37°C.
- ✓ Les lames et lamelles.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Becbunsen.
- ✓ Anse de platine.
- ✓ Ecouvillon.
- ✓ Pincés.
- ✓ Boîtes de pétri (9cm de diamètre).
- ✓ Distributeurs d'antibiotiques.
- ✓ Disques d'antibiotiques.
- ✓ Tubes à essais.
- ✓ Disques d'oxydase.
- ✓ Disques d'ONPG.

1.1.3 Milieux utilisés :

- ✓ Gélose nutritive.
- ✓ Gélose Mueller-Hinton.
- ✓ Gélose EMB (gélose éosine bleu de méthylène).
- ✓ Milieu TSI.
- ✓ Milieu Urée-Indole.
- ✓ Milieu Citrate de Simmons.
- ✓ Milieu Clarks et Lubs.
- ✓ Milieu Mannitol mobilité.
- ✓ Milieu Bouillon nitrate.
- ✓ Milieu Moeller-Falkow (ODC, LDC, ADH).
- ✓ Eau peptonée exemptée d'indole.
- ✓ Huile de vaseline.

1.1.4 Réactifs :

- ✓ Kovacs
- ✓ Rouge de méthyle
- ✓ VP I : alpha méthyle à 6%
- ✓ VP II : KOH à 40%
- ✓ NIT I : acide sulfanilique (en solution à 8% en acétique 5N)
- ✓ NIT II : naphtylanine (en solution à 6% en acétique 5N)
- ✓ Eau oxygénée à 10 V

1.2. Méthodes

1.2.1. Isolement sur milieu solide :

Les deux souches présumées *E. coli*, conservées sur gélose nutritive inclinée, ont été ré-isolées sur milieu EMB et incubées à 37°C pendant 18h à 24h.

- Etude macroscopique

Après incubation à 37°C pendant 18 à 24h, les caractéristiques macroscopiques des colonies d'*E. Coli* (la forme du relief, la taille, la couleur, l'aspect.....etc.) sont observées à l'œil nu.

- Etude microscopique

Une coloration de Gram a été effectuée (annexe 3).

1.2.2. Identification par galerie biochimique :

- Préparation de la suspension bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne s'effectue par le transfert en conditions aseptiques, d'une colonie bien isolée.

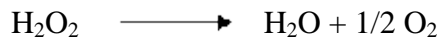
Cette suspension sert à ensemercer différents milieux de cultures en tubes permettant ainsi de mettre en évidence les différents caractères biochimiques d'*E. coli*.

- **Recherche de l'oxydase**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N-diméthylparaphénylène diamine. Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram -. [52]

- **Recherche de catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et $1/2 O_2$.



La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram négatif. [54]

- **Recherche de l'utilisation du glucose, lactose, production de gaz et H_2S sur le milieu TSI.**

Le milieu TSI utilisé pour l'identification des entérobactéries dont *E. coli* Il permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégradation gazeux), du glucose, lactose, production de d'hydrogène sulfuré H_2S .Il estensemencé comme indiqué dans la figure .Il est important de ne pas visser le bouchon pour permettre les échanges gazeux Incubation 24h à 37°C. [55]

- **Test mannitolmobilité**

Le mannitol est un polyalcool issu de la réduction du D-fructose. Sa dégradation conduit à la formation de fructose qui est attaqué en donnant des acides à chaînes courtes (acide méthanoïque, acide éthanoïque...). Il permet de lire: la mobilité, la fermentation du mannitol, la réduction des nitrates en nitrites et la production de gaz). [56]

- **Test du rouge de méthyle (RM) et vogesproskauer (VP)**

Le milieu de Clark et Lubs permet l'étude des produits de fermentation du glucose et la différenciation entre la fermentation (des acides mixtes) et la fermentation (butandiolique).

- **Test du rouge de méthyle (RM)**

Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la fermentation acide mixte par acidification d'un milieu glucosé après fermentation du glucose.

Après incubation, le réactif rouge de méthyle est ajouté.

- **Recherche de l'acétoïne vogesproskauer (VP)**

Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétoïne ou le 3-hydroxybutanone au cours de la fermentation butylène glycolique: en présence d'une base forte VP II et d'alpha-naphtol VPI, l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné. La présence de l'acétoïne se traduit par un virage du milieu au rose rougeâtre. [57]

- **Recherche de l'utilisation de citrate**

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate. Seules les bactéries possédant un citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu. L'utilisation du citrate peut se faire de diverses manières, ce qui suivant le cas, il se traduira par une alcalinisation ou une acidification du milieu, plus ou moins importante.

Une bactérie sera citrate plus si elle alcalinise le milieu en utilisant le citrate. Cette réaction est indiquée par le changement de couleur de l'indicateur de pH, le bleu de bromothymol qui devient bleu. [53]

- **Recherche de l'indole et mise en évidence de l'uréase et de la TDA**

Le milieu Urée-tryptophane, improprement appelé urée-indole est un milieu de culture synthétique utilisé en bactériologie permettant la mise en évidence simultanée :

- De la production d'indole (par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase).
- De l'hydrolyse de l'urée (par une uréase).
- La désamination du tryptophane par le tryptophane désaminase. [58]

- **Bouillon nitrate :**

Le bouillon nitraté est un bouillon de culture permettant la recherche de l'utilisation de l'ion nitrate par certains micro-organismes, notamment par respiration nitrate. [59]

- Milieux Moeller-Falkow :

Ce milieu fait parti des milieux d'étude du métabolisme protidique. Il permet de révéler les décarboxylases liées aux acides aminés étudiés : LDC, ODC, ADH.

Ce sont des milieux d'identification très utilisés pour le diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles et genres suivants : *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Pseudomonas* et genres associés.

- Dans un premier temps les bactéries en anaérobiose, fermentent le glucose et donc les milieux s'acidifient (virage du violet au jaune de l'indicateur de pH).
- Dans un deuxième temps, les bactéries ayant épuisées le glucose peuvent utiliser l'acide aminé présent dans le milieu si elles possèdent les enzymes adéquats.

En anaérobiose et en milieu acide c'est la décarboxylation des acides aminés par les décarboxylases qui est favorisée. L'amine produite ré-alcalinise le milieu ce qui a pour effet de faire virer au violet le milieu.[60]

1.2.3. Etude de la sensibilité d'*E.coli* aux antibiotiques :

L'étude de l'antibiogramme est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose de Mueller-Hinton suivant les recommandations du CLSI.

En utilisant les antibiotiques suivants : les β -lactamines (amoxicilline AMX, Amoxicilline+Acide clavulanique AMC, ticarcilline TIC, céfazoline CZ, céfoxitine FOX, céfotaxime CTX, imipénème IPM), les aminosides (gentamicine GN, amikacine AN), les quinolones et les sulfamides (acide nalidixique NA, ciprofloxacine CIP, colistine Cs, nitrofurantoïne NF, sulfaméthoxazole+triméthoprim SXT)

a. Milieu de culture

Le Milieu Mueller-Hinton est coulé dans une boîte de pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4 mm.

b. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18h sur GN, racler à l'aide d'une anse de platine une colonie bien isolée et la transférer dans un tube contenant 2ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 McFarland ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625nm.

c. Ensemencement

-Tremper un écouvillon stérile dans la suspension, bactérienne.

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

-Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

-Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose

d. Application des disques d'antibiotiques

Après 15 mn de séchage des boîtes, les disques choisis sont posés soit à la pince fine flambée, soit à l'aide d'un distributeur des disques.

e. Prédifusion et incubation

Il est important d'observer une Prédifusion d'antibiotiques de 30mn à température ambiante.

f. Lecture et interprétation

La lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d'antibiotique à l'aide du pied à coulisse, à l'extérieur du biote fermé. Comparer les résultats aux valeurs critiques. Classer la bactérie dans une des catégories :

- **Sensible:** Les souches **S** sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est acceptable. On doit s'attendre à un effet thérapeutique dans le cas d'un traitement à dose habituelle par voie générale.
- **Résistante:** Les souches **R** sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique. On ne peut s'attendre à un effet thérapeutique quel que soit le traitement.
- **Intermédiaire :** Les souches **I** sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Elles forment un ensemble hétérogène pour lequel la seule valeur de la CMI n'est pas prédictive

Résultats

1. Identification des souches :

1.1. Aspect macroscopique

- Sur le milieu EMB, la culture des souches révèle des colonies violet foncé bombées présentant un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie.

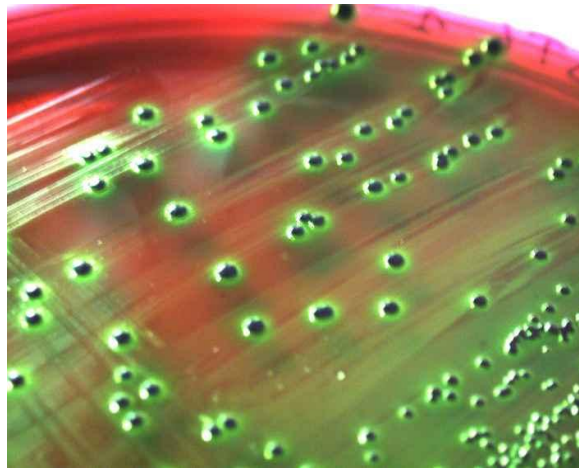


Figure11 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu EMB

1.2. Aspect microscopique :

- L'observation microscopique après coloration de Gram montre la présence des bacilles à Gram négatif.

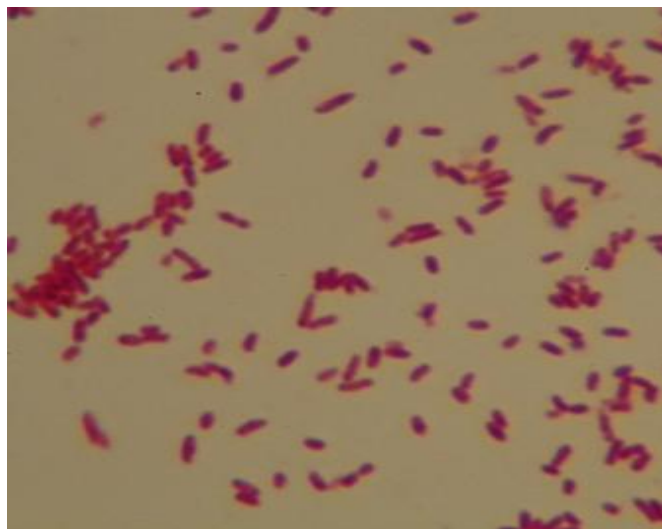


Figure12:Aspect microscopique (coloration de Gram)

1.3. Identification biochimique :

Le tableau4représente les caractères d'identification des deux souches :

Tableau4 : Les résultats d'identification biochimique des deux souches :

tests \ Souche		Souche1	Souche2
TSI	Glu	+	+
	Lac	+	+
	Sacch	-	-
	GAZ	-	-
	H₂S	-	-
Mannitol Mobilité	Mannitol	+	+
	Mobilité	+	+
Citrate		-	-
Clark et Lubs	RM	+	+
	VP	-	-
Nitrate		+	+
Catalase		+	+
oxydase		-	-
Urée Indole	Uréase	-	-
	Indole	+	+
	TDA	-	-
Milieu Moeller- Falkaw	ADH	-	-
	LDC	-	-
	ODC	+	+

1.4.L'antibiogramme :

Comme nous l'avons mentionné précédemment chaque souche a été soumise à un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité aux différents antibiotiques ; la mesure des diamètres des antibiotiques testés est comparée aux diamètres critiques recommandés par le CLSI(annexe) ; Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 5 :

Tableau5 :Le profil de résistance des souches aux antibiotiques des deux souches :

Antibiotique	Diamètre mesuré	Souche 1	Souche 2
Amoxicilline (AMX)	<6	R	R
Amoxicilline +AC. Clavulanique (AMC)	12	R	R
Ticarcilline (TIC)	<6	R	R
Piperacilline (PIP)	26	S	S
Céfazoline (CZ)	<6	R	R
Céfotaxime (CTX)	29	S	S
Imipenene (IMP)	34	S	S
Gentamycine (CN)	19	S	S
Amikacine(AM)	24	S	S
Pefloxacone(PEF)	35	S	S
Sulfaméthoxazole + Triméthoprime (SXT)	24	S	S
Colistine(COL)	22	S	S
Chloramphénicol (C)	34	S	S
Nitrofurane (NIT)	22	S	S

S : sensible

R : résistance

Résultats de l'antibiogramme des 9 souches d'*E.coli* isolées des eaux usées :

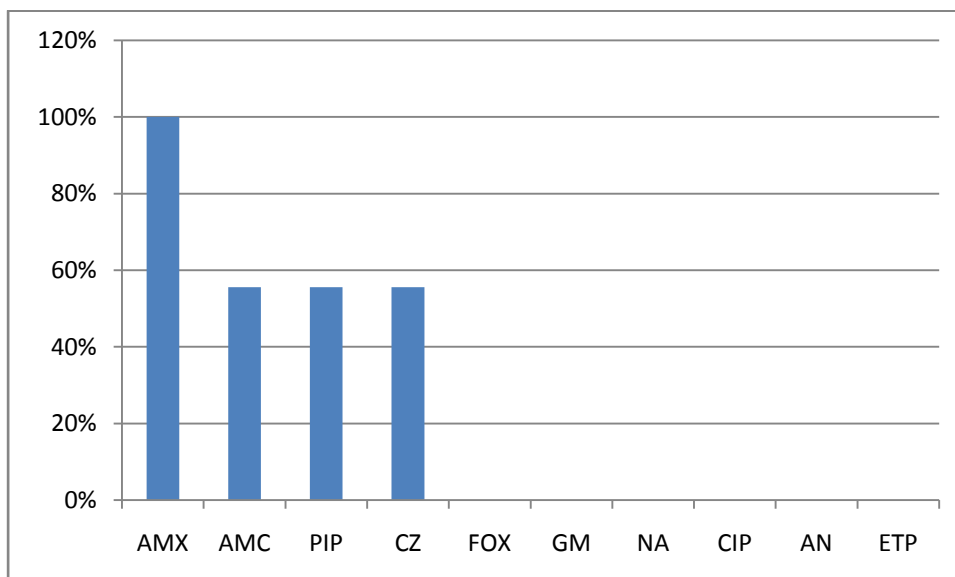
Le tableau 6 représente l'antibiogramme des 9 souches d'*E. coli* isolées des eaux usées, nous remarquons la résistance aux β -lactamines suivants : AMX, AMC, PIP, et CZ et la sensibilité aux autres antibiotiques testés.

Tableau 6 : Résultats de l'antibiogramme des 9 souches d'*E. coli* isolées des eaux usées

Antibiotiques	Résistance	
	Nombre	pourcentage
AMX	9	100%
AMC	5	55,55%
PIP	5	55,55%
CZ	5	55,55%
FOX	0	0%
GN	0	0%
NA	0	0%
CIP	0	0%
AN	0	0%
ETP	0	0%

La figure 13 illustre l'histogramme des pourcentages de résistance des 9 souches d'*E. coli* isolées des eaux usées.

Figure 13 : Histogramme de pourcentage de la résistance aux antibiotiques d'*E. coli* n=9 isolées des eaux usées.



Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées des urines montrent une résistance des β -lactamines suivants : AMX(66,2%), AMC (32,3%), TIC(66,2%), CZ (26,5) et CTX(8,8%) les Aminosides : GN(8,8%), AN(2,9%), les quinolones NA(26,5%), CIP(19,1%) et les autres ,SXT(45,6%), NIT(1,5%)

Tableau 7 : Résistance des souches d'*E.coli* aux antibiotiques n=68 échantillon urine.

Antibiotiques	Résistances	
	Nombre	pourcentage
AMX	45	66,2%
AMC	22	32,3%
TIC	45	66,2%
CZ	18	26,5%
CTX	6	8,8%
GN	6	8,8%
AN	2	2,9%
NA	18	26,5%
CIP	13	19,1%
SXT	31	45,6%
NIT	1	1,5%

L'histogramme (figure 14) illustre bien la résistance des 68 souches *E. coli* isolées aux niveaux des urines

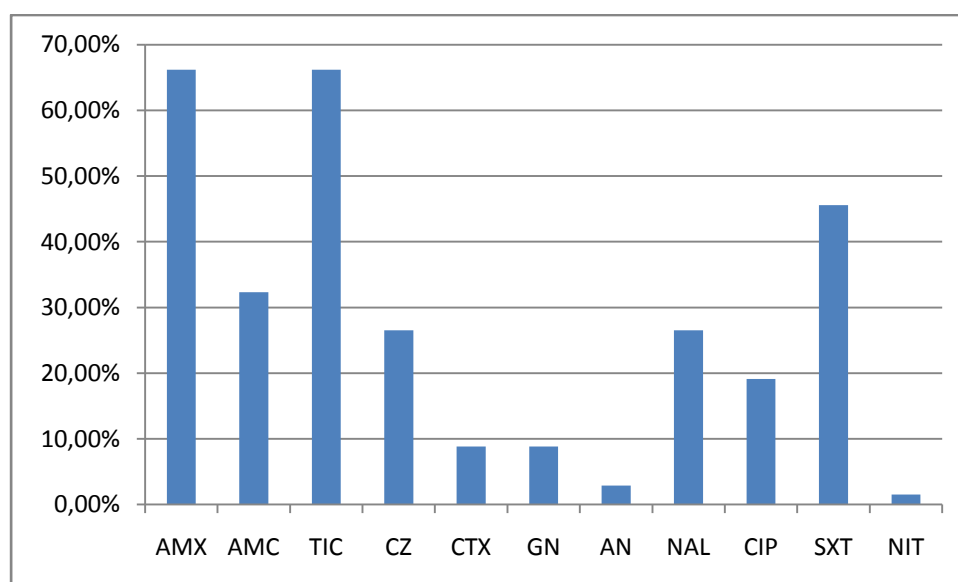


Figure 14: Histogramme de pourcentage de la résistance d'*E.coli* aux antibiotiques n=68 échantillon urine

Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées des coprocultures révèlent aussi une nette résistance aux β -lactamines AMX(80%) ,AMC(40%) ,TIC(40%) ,PIP(30%) , aux Céphalosporines CZ(60%) ,FOX(20%) ,CTX(50%) ,CAZ(40%).aux Aminosides GN(50%),aux Quinolones NA(40%),CIP(50%), et aussi aux autres antibiotiques FEP(20%),ATM(40%),FOS(10%),NET(30%),PEF(10%),C(30%),NF(10%) (Tableau 8).

Tableau 8 : Résistance des souches d'*E.coli*aux antibiotiques n=47 isolées des coprocultures.

Antibiotiques	Résistance	
	Nombre	pourcentage
AMX	38	80%
AMC	19	40%
TIC	19	40%
PIP	14	30%
CZ	28	60%
FOX	9	20%
CTX	24	50%
CAZ	19	40%
FEP	9	20%
ATM	19	40%
FOS	5	10%
GN	24	50%
NET	14	30%
NA	19	40%
PEF	5	10%
CIP	24	50%
SXT	38	80%
C	14	30%
NF	5	10%

La figure15 représente les résultats de l'antibiogramme des 47 souches d'*E. coli* isolées des coprocultures

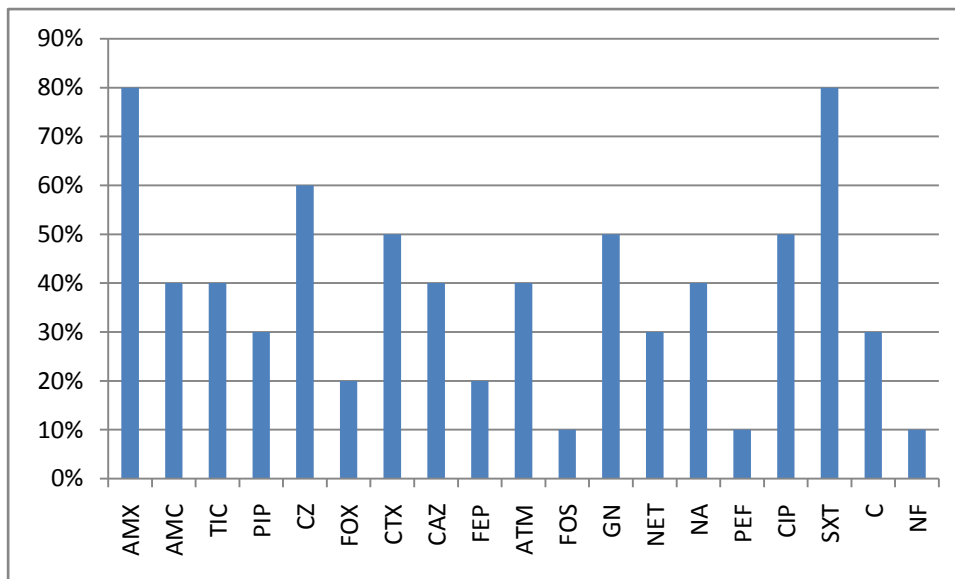


Figure 15 : Histogramme de pourcentage de la résistance d'*E.coli*aux antibiotiques souches isolées des coprocultures n=47.

Après avoir considéré l'antibiorésistance des souches dans leur ensemble, les taux de résistance ont été analysés en regroupant les souches d'*E.coli*des différentes sources : eaux usées(9), des urines(68) et (47) des coprocultures

Les résultats de notre étude comparative de la résistance aux antibiotiques de 124 souches d'*E. coli*isolées sont représentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Résistance des souches d'*E. coli*n=124isolées des trois sources (Eaux usées, Urines, coprocultures).

Antibiotiques	Pourcentage des résistances		
	Eaux usées	Urines	coprocultures
AMX	100%	66,2%	80%
AMC	55,55%	32,3%	40%
CZ	55,55%	26,5%	60%
GN	0%	8,8%	50%
NA	0%	26,5%	40%
CIP	0%	19,1%	50%

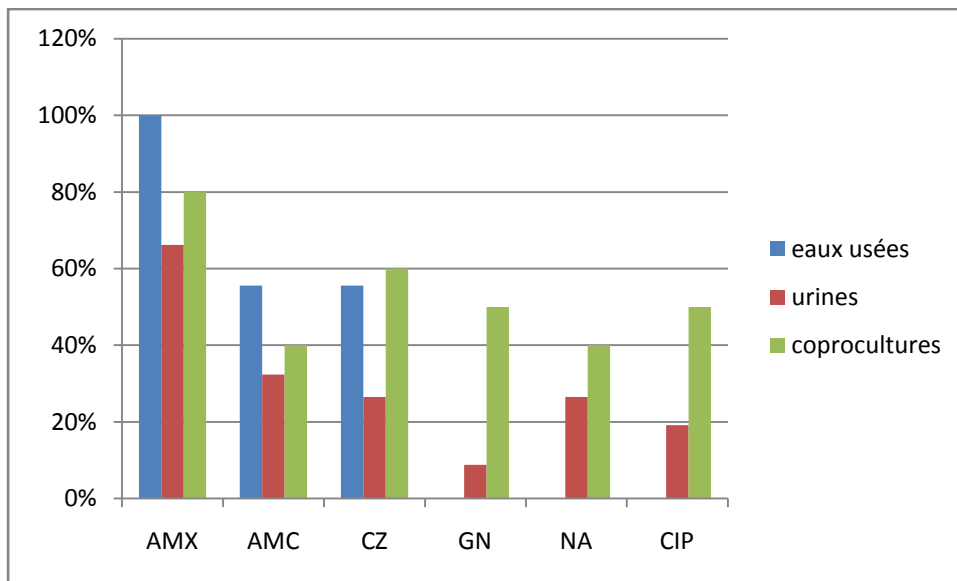


Figure 16 : Histogramme de pourcentage de la résistance d'*E.coli* aux antibiotiques souches isolées des (Eaux usées, Urines, coprocultures).

Le nombre d'antibiotiques testés varient d'un échantillon à l'autre. Certains antibiotiques n'ont pas été testés sur les souches provenant des eaux usées et ceci en raison de la non disponibilité de ces antibiotiques.

La figure 16 reprend tous les échantillons confondus, représente le pourcentage de résistance aux antibiotiques testés. La gentamicine, l'acide nalidixique et la ciprofloxacine représentent un taux égal à 0% pour les souches isolées des eaux usées.

On observe que les taux varient nettement d'un antibiotique à l'autre.

L'amoxicilline (AMX) est l'antibiotique qui présente le plus haut taux de résistance : plus des deux tiers des souches sont résistantes à cet antibiotique. Cet antibiotique est utilisé aussi bien en médecine humaine que vétérinaire et ce sans limite d'usage (il est parmi les antibiotiques les plus prescrits en pratique ambulatoire) ce qui explique la présence de nombreuses souches résistantes à son égard.

Le taux de résistance à l'association amoxicilline/acide clavulanique (AMC) est plus bas que celui de l'amoxicilline (55,55% (eaux usées), 40% (coprocultures) et 32,3% (urines)).

La céfazoline (CZ) présente un taux moins élevé par rapport à l'amoxicilline et à l'association amoxicilline/acide clavulanique.

Les résistances envers ces trois antibiotiques sont présentes chez toutes les souches.

Des taux de résistance de même ordre ont été rapportés dans une étude réalisée par Zahar et al. [21]

Les taux de résistance sont clairement différents d'un échantillon à un autre, on peut classer alors, nos échantillons sur la base de leur taux décroissant: eaux usées, urines et coprocultures.

Nos résultats sont en accord avec Parveen S.(1997) qui mettait un en évidence un taux de résistance élevé des souches d'*E. coli isolées* dans les eaux usées que des souches isolées en milieu hospitalier.

Discussion

Discussion

Notre étude comporte dans un premier temps, la caractérisation morphologique biochimique et culturale de deux souches d'*E. coli* isolées à partir des eaux usées et l'étude de leur comportement vis-à-vis des antibiotiques et dans un deuxième temps la comparaison de cette résistance avec celle des souches des eaux usées(7), des urines (68) et des coprocultures(47).

La caractérisation des deux souches étudiées révèle les caractéristiques suivantes :

Les deux souches étudiées sont de petits coccobacilles à Gram négatif et oxydase négative.

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour orienter le diagnostic et classer ces souches dans la famille des Enterobacteriaceae.

Les deux souches ont donné le profil biochimique suivant :

Oxydase- , Catalase+, Glucose+, Lactose+, saccharose+, Gaz- , H₂S-, Mannitol+, Mobilité+, Citrates-, RM+, VP-, ONPG+, réduction des nitrates en nitrites, Uréase-, Indole+, ADH-, LDC-, ODC+.

Ce profil est semblable à celui de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 ce qui confirme que nos deux souches sont des *E. coli*.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé que toutes nos souches sont résistantes à 100% aux premières β -lactamines et que seule les *E. coli* isolées des eaux usées sont sensibles à la quasi-totalité des autres antibiotiques testés à savoir : les aminosides, les quinolones et les Fluoroquinolones.

La situation n'est pas alarmante, vu la sensibilité aux autres antibiotiques qui représente une excellente activité.

Pour les souches isolées au niveau des coprocultures :

le pourcentage de la résistance aux β -lactamines est respectivement : AMX (80%), AMC (40%), TIC (40%) et PIP (30%). Notons aussi la résistance aux β -lactamines.

Cependant le pourcentage de la résistance aux céphalosporines est de : CZ (60%) ; CTX, par contre pour GN, CIP (50%), NET, C (30%) et FOX, FEP (20%).

Nous remarquons un faible pourcentage (10%) pour les antibiotiques suivants : FOS, PEF, NF

Pour les souches isolées au niveau des urines :

La proportion des souches résistantes au β -lactamines est de (66,2%) pour l'AMX et TIC, de (32,4%) pour AMC et de(26,5%) pour la CZ, le taux des BLSE est de (8,8%).

Pour aminosides la résistance touche la GN (8,8%) plus que l'AN (2,9%) qui garde ainsi une meilleure activité.

les quinolones montrent un taux de résistance à la NA de (26,5%)alors que celui de la CIP est de (19,1%).Les autres antibiotiques ont des taux respectifs :SXT(45,5 %), et le NIT(1 ,5%).

La comparaisondes résistances vis à vis des antibiotiques des souches d'*E. coli* révèle :

Pour les β -lactamines :l'AMX àprésenté le pourcentage le plus haut (100%), (66,2%), (80%) respectivement pour eaux usées, urines et coprocultures et la résistance de l'AMC représente (55,55%), (32,3%), (40%).La céfazolineCZ àdonné des résultats plus au moins importantes. Pour les souches isolées des eaux usées (55,55%), par contre au niveau des urines le taux est plus faible que celui des coprocultures (60%) avec un pourcentage de (26,5%).

Pour les Aminosides et les Quinolones : GN, NA, CIP, on remarque pour les souches isolées des eaux usées une sensibilité totale de (100%).Cette variété des pourcentages de résistances est dûeau large usage des antibiotiques plus précisément les β -lactamines.

Pour les autres antibiotiques testées la résistance et beaucoup plus développée chez les souches isolées cliniquement en temps qu'ils gardent une excellente activité sur les *E.coli* isolées des eaux usées.

Conclusion

Conclusion

Ce travail avait pour objectifs de caractériser deux souches d'*E. coli* et de déterminer la sensibilité aux antibiotiques de 124 souches d'*E. coli* isolées de diverses origines (eaux usées, urines et coprocultures).

La caractérisation des deux souches a donné un profil identique à la souche de référence *E. coli* ATCC 25922.

L'étude de la résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques dans les différents échantillons a confirmé le fait que l'utilisation d'antibiotiques tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire provoque l'émergence puis la dissémination des bactéries fécales antibiorésistantes.

A ce sujet les souches isolées des eaux représentent une résistance aux β -lactamines et une sensibilité aux autres antibiotiques.

Pour la résistance aux antibiotiques, on a remarqué le taux élevé de la résistance aux β -lactamines suivants : AMC, AMX, CZ pour toutes les souches et également la résistance aux antibiotiques suivants : GN, NA et CIP des souches isolées des coprocultures et des urines.

L'étude de la résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques dans les eaux usées a confirmé le fait de l'utilisation d'antibiotiques tant en médecine qu'en divers domaines, provoque l'émergence et puis la dissémination des bactéries fécales antibiorésistantes.

Cette étude préliminaire a prouvé la mise en évidence et la présence dans les eaux usées des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques, ce qui peut poser un problème sanitaire sérieux quand il s'agit de bactéries pathogènes.

Nos perspectives seraient :

- D'isoler un nombre élevé d'*E. coli* de diverses sources d'eaux.
- Il serait aussi intéressant de connaître la résistance aux antibiotiques dans divers prélèvements et de diverses sources et réaliser une étude comparative comprenant tous les antibiotiques utilisés en thérapeutique.
- De déterminer et comparer les sérotypes des souches et ceci dans un but épidémiologique.

Références
Bibliographiques

- [1] : **Grimont P.** 1987. Taxonomie des *Escherichia*. Méd Mal Infect **Numéro spécial**.
- [2]: **Greatorex J. S., Thorne G. M.** (1994). Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. J Clin Microbiol **32**:1172-1178.
- [3] : **Fauchère J., LAvril J.L.**(2002). Bactériologie générale et médicale.Ellipses édition. Marketing S.A. :**237-239**. Fremaux, B. 2007. Écologie des *Escherichia coli*.
- [4] : **Mainil J**(2003).facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli*. Les sésines et facteurs de colonisation. *Ann.Med.Vet.***147(2) ,105-126**
- [5] : **Levine M.M.** (1987). *Escherichia coli* that cause diarrheai: enterotoxigenic ,enteropathogenic, enteroinvasive ,enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J.infect. Dis* .155:377-389.
- [6] : **Pohl P., Linermas P ., Mainil,j .,et Deprez P.**(1998).Production des vérocytotoxine par *E. coli* du porc. Annales de médecine vétérinaire.133.31-38.
- [7] : **Montet, M.P.** (2009). Contamination des aliments par *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines(STEC) en France, et importance de l'acide-résistance des souches. Thèse Ecole Pratique des Hautes Etude.72p.
- [8] : **Bergey's Manual of systematic Bacteriology.** (2001). 2^{ème} Edi .vol1.
- [9] : **Avril. J. L., Monteil. H., Dobernat.H., Denis. F.**Bactériologie Clinique. Édition ELLIPSE: 171, 172, 175, 208 ,294 ,295
- [10] : **Flaudrois J. P.** Bactério Géné/ croissance bactérienne Cours de Bactériologie Médicale DCEM1 UFR Médecine Lyon Sud- Laboratoire de Biométrie, Biologie Evolutive UMR 5558. (2004): 1, 3, 10.
- [11] : **Edler L.** Biometry - The Role of the Biostatistician. Introduction to Clinical Drug Research. Vienna School of Clinical Drug Research. 22 – 26, Janvier 2001: 15.
- [12] : **Espace étudiants.**Définition, Classification et Nomenclature des bactéries. Cours de bactériologie générale. 21, Novembre, 2002 : 1, 4, 5, 10
- [13] : **Lobril J. R.**Réévaluation du modèle de croissance de Monod : effets des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse Université de Lyon I, France. (1998) : 42, 77.
- [15] : **Stentz, R., Weintraub, A. & Widmalm G.** (2006). The structures of *Escherichia coli* Opolysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev* 30, 382–403.

- [16] : Osborn, M. J., Rosen, S. M., Rothfield, L., Zeleznick, L. D. & Horecker, B. L. (1964). Lipopolysaccharide of the gram-negative cell wall. *Science* 145, 783–789.
- [17] : Wang, L., Rothemund, D., Curd, H. & Reeves, P. R. (2003). Species-wide variation in the *Escherichia coli* flagellin (H-antigen) gene. *J Bacteriol* 185, 2936–2943.
- [18] : Reid, S. D., Selander, R. K. & Whittam, T. S. (1999). Sequence diversity of flagellin (*fliC*) alleles in pathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 181, 153–160.
- [20] : SARR, M. (2012) Prévalence des souches d'*Escherichia coli* porteuses de gènes de virulence associés aux *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) et/ou résistantes aux antibiotiques dans les effluents de la station d'épuration de Cambérène et des abattoirs de Dakar.
- [21] : Zahar J.P., Moumille K. (2007). *Escherichia coli*, définition, épidémiologie des résistances. Service de microbiologie hygiène, CHU de Necker Enfants malade
- [23] : Bush R, Jacoby G.A, Medeiros A.A., (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents chemother.* 39:1211-1233
- [24] : Kliebe C., B. A. Nies, J.F. & R.M Meyer, Tolxdorff-Neutzling, and B. Wiedemann .1985. Evolution of plasmid- coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents chemother.* 28:302-307
- [25] : Knothe, H., P. Shah, V. Kremery, M. Antal and S. Mitsuhashi, 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11: 315-317.
- [26] : Bradford, P. A. 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:933-951.
- [27] : Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657-86.
- [29] : Bousseboua H. (2005). Microorganismes et santé .In : Eléments de microbiologie. 2ème Ed. Campus-Club. Algérie ,265.
- [30] : Guiraud J.P. Génétique microbienne, Bases théoriques et introduction aux applications pratiques. Paris : Technique et documentation-Lavoisier, 1993 ;chap 2 et 3, pages 83-151.
- [31] : Kern-bernaibout E.M. (2006). *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme : Synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la

transmission à l'homme par la contamination de l'environnement. Thèse : Méd. Vét :
Toulouse : ENVT

[32] : Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2007). Structures et fonction. In Microbiologie. 2^{ème} Ed. Boeck Université Bruxelles, 62.

[33] : Cohen N., Karib H. (2006). Risque hygiénique lié à la présence d'*E. coli* dans la viandes et les produits carnés : un réel problème de santé publique. Les technologies de laboratoires. 1, 4-9.

[34] : Rousset E., Dubreuil D (2000). Les récepteurs des entérotoxines bactériennes. *Vet. Rech.* 31.413-435.

[35] : Nataro, J.P. & Kaper, J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), p.142-201.

[36] : Cassels, F.J. and Wolf, M.K. (1995) Colonization factors of diarrheagenic *E. coli* and their intestinal receptors. *Journal of Indian Microbiology*. 15: 214-226.

[37] : Andrade, J.R., Da Veiga, V.F., De Santa Rosa, M.R. and Suassuna, I. (1989) An endocytic process in HEp-2 cells induced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Med Microbiol*. 28: 49-57.

[38] : Jerse, A.E., Yu, J., Tall, B.D. and Kaper, J.B. (1990) A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 87: 7839-7843.

[39] : Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 123-140.

[40] : Brenner, D., Fanning, G., Miklos, G. and Steigerwalt, A. (1973) Polynucleotide sequence relatedness among *Shigella* species. *Int J Syst Bacteriol*. 23: 1-7.

[41] : Cookson, S.T. and Nataro, J.P. (1996) Characterization of HEp-2 cell projection formation induced by diffusely adherent *Escherichia coli*. *Microb Pathol*. 21: 421-434.

[42] : Benz, I. and Schmidt, M.A. (1992) AIDA-I, the adhesin involved in diffuse adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* strain 2787 (O126:H27), is synthesized via a precursor molecule. *Mol Microbiol*. 6: 1539-1546.

[43] : Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., et al (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*. 308: 681-685.

- [44] : **Konowalchuk, J., Speirs, J.I. and Stavric, S.** (1977) Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun.* **18**: 775-779.
- [45] : **Levine, M.M. and Edelman, R.** (1984) Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. *Epidemiologic Reviews.* **6**: 31-51.
- [46] : **Karch, H., Russmann, H., Schmidt, H., Schwarzkopf, A. and Heesemann, J.** (1995) Long-term shedding and clonal turnover of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in diarrheal diseases. *J Clin Microbiol.* **33**: 1602-1605.
- [47] : **Kauffmann, F.** 1947. The serology of the *E. coli* group. *Journal of Immunology* **57**:71-100.
- [48] : **Huang, S.H., Stins, M.F., and Kim, K.S.** (2000) Bacterial penetration across the blood-brain barrier during the development of neonatal meningitis. *Microbes Infect* **2**: 1237-1244.
- [49] : **Prasadarao, N.V., Wass, C.A., Stins, M.F., Shimada, H., and Kim, K.S.** (1999) Outer membrane protein A promoted actin condensation of brain microvascular endothelial cells is required for *Escherichia coli* invasion. *Infect Immun* **67**: 5775-5783.
- [50] : **Touchon, M., et al.,**(2009) Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet* **5**: e1000344.
- [51] : **Johnson, T.J., et al.** (2007) The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes. *J Bacteriol* **189**: 3228-3236.
- [61] : **Parveen S.** (1997). Association of multiple antibiotic profiles whit point and non point of *E. coli*. *Applied and Environmental Microbiology*: **63**(7): 2607-2612.
- [62] : **Dafri M., Briane K.** (2011) Isolement et étude des souches d'*E. coli* au des coprocultures et la détermination de la résistance aux antibiotiques.
- [63] : **Djerfi S., Nedjar O.** (2013) Isolement et identification d'*E. coli* au niveau des eaux usées d'oued Boumerzoug Chaâbat Erssas Etude de la résistances aux antibiotique.
- [64] : **Hamimes G., Belaieb A.** (2011) les infections urinaires communautaires à *E. coli* au CHUconstantine.

WEBOGRAPHE

[14]: www.liste-hygiene.org/ESCHE.html.

[19]: fr.wikipedia.org/wiki/Escherichiacoli

[28]: <https://www.potagercity.fr/.../E.+Coli,+Dr+Jekyll+ou+Mr+Hyde+%3F>

[22]: www.chups.jussieu.fr/polys/bactério/résistlacta/POLY.chap7.html.

[52]: www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/.../tests_microbiologie2.htm.

[53]: fr.wikipedia.org/wiki/Citrate_de_Simmons.

[54]: www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/catalase.htm.

[55]: www.solabia.fr/...nsf/.../D5D9F075857C0657C12574B4002A40BF.

[56]: www.microbiologie-medicale.fr/.../mannitolmobilitenitrate.htm.

[57]: www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/clarklubs.htm.

[58]: www.microbiologie-medicale.fr/metabolisme/ureeindole.htm.

[59]: fr.wikipedia.org/wiki/Bouillon_nitraté.

[60]: romain.ferry.pagesperso-orange.fr/micro/matmicro/.../falk0000.htm

Annexes

Annexe 1 : les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Les familles	Les antibiotiques	Abréviation	La charge des disques (mg)	Valeur critique (mm)		
				R	I	S
β-lactamine	Amoxicilline	AMX	25	≤ 13	14-17	≥18
	Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	10/20	≤ 13	14-16	≥17
	piperacilline	PIP	100	≤ 13	14-17	≥18
Aminosides	Gentamicine	GN	10	≤ 12	13-14	≥15
	Amikacine	AN	30	≤ 13	14-16	≥17
Quinolone et Fluoroquinolones	Acide Nalidixicique	NA	30	≤ 10	11-15	≥16
	Ciprofloxacine	CIP	5	≤ 12	13-14	≥15
	Ertapeneme	ETP	10	≤ 13	14-16	≥17
céphalosporines	Céfoxitine	FOX	30	≤14	15-17	≥18
	Céfazoline	CZ	30	≤ 14	15-17	≥18

Annexe 2 : La composition des milieux de culture g/L**1. La gélose EMB**

Peptone : 10,0 g
Lactose : 10,0 g
Éosine : 0,4 g
Bleu de méthylèn : 0,625 g
Hydrogénophosphate de potassium : 2,0 g
Agar : 15,0 g
pH6=8

2. La gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf :300,0 ml
Peptone de caséine :17,5 g
Amidon de maïs : 1,5 g
Agar :17,0 g
pH =7,4

3. Citrate de Simmons :

Citrate de sodium.....	1,0 g
Bleu de bromothy.....	0,08 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Sulfate de magnésium	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium	1,0 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium	1,0 g
Agar-agar.....	15,0 g
pH=7,1	

4. Milieu TSI :

Peptones de caséine.....	15 g/l
Peptones de viande	5 g
Extraits de viande.....	3 g
Peptones de levur.....	3g
NaCl.....	5g
Lactose	10 g
Saccharose	10g
Glucose	1g
Citrate ammoniacal de Fer (III)	0,5g
Thiosulfate de sodium.....	0,5g
Rouge de phénol.....	0,024g
Agar.....	12g
Ph=7,5	

5. Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate

Hydrolysats tryptique de caséine:.....	10,0 g
Mannitol :.....	7,5 g
Rouge de phénol:.....	0,004g

Nitrate de potassium:.....1,0 g

Agare:.....3,5 g

pH = 7,6

6. Milieu Urée-tryptophane ou urée-indole

L-tryptophane.....20g

Hydrogénophosphate de potassium.....1g

Dihydrogénophosphate de potassium.....1g

NaCl 5g

Alcool à 95° GL 10mL

Rouge de phénol25mg

Eau distillée1L

7. Milieu CLARK ET LUBS

Peptone trypsique de viande.....6g

Glucose.....5g

Hydrogénophosphate de potassium5g

Eau distillée.....1L

8. Bouillon nitraté

Infusion cœur-cervelle..... 25,0 g

Nitrate de sodium..... 10,0 g

Eau distillée (qsp) 1L

9. Milieu de Moeller

Extrait de levure :..... 3 g

L-ornithine (monochlorhydrate)

L-arginine (monochlorhydrate)5 g

L-lysine (monochlorhydrate)

Glucose : 1 g

Bromocrésol pourpre :0,16 mg

Éthanol:1 mL

Chlorure de sod..... 5 g

pH = 6,8

Annexe 3 : Technique de la coloration de Gram :

Elle nécessite d'avoir un frottis fixé

1. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau
2. Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée) : étalez le lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.
3. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone) est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. Attention, l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries gram négatif.
4. Recoloration à la safranine ou à la fushine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de Fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50°C.
5. Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

SERARBA ZAHRA	Date de soutenance: 23 /06/2014	
Thème : Etude comparative de la résistance aux antibiotiques d'<i>E. coli</i> souches isolées des eaux usées des coprocultures et des urines		
Nature du diplôme: Master en microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes (Sciences de la nature et de la Vie) Université Constantine 1.		
<p>Résumé :</p> <p>L'objectif de cette présente étude est de caractériser deux souches d'<i>E. coli</i>, isolées des eaux usées de Oued Boumerzoug, sur le plan morphologique, cultural et biochimique et de déterminer leur comportement vis-à-vis des antibiotiques puis réaliser une étude comparative de la sensibilité aux antibiotiques les plus utilisées en thérapeutique, de 124 souches d'<i>E. coli</i> isolées de diverses sources dont: coprocultures (47), urines (68) et eaux usées (9), afin de préciser l'importance de cette bactérie en terme de santé publique.</p> <p>Les résultats montrent que les deux souches ont bien cultivé sur milieux de culture sélectifs EMB à 37°C et présentent les caractéristiques suivantes: petits bacilles à Gram négatif ,oxydase + catalase- ,glucose+, lactose+,gaz-,H₂S-, uréase- , indole + , réduisant les nitrates en nitrites RM+et VP-, mannitol+, mobilité+ , n'utilisant pas les citrates comme seule source de carbone.</p> <p>L'étude de la résistance aux antibiotiques a été déterminée, par la méthode de l'antibiogramme standard préconisé par le CLSI des souches étudiées, fait apparaître d'importantes résistances vers plusieurs antibiotiques. Toutes les souches ont présenté une résistance de 100% aux β-lactamines à savoir : l'Amoxicilline(AMX), Amoxicilline+acideclavulanique (AMC), Piperacilline (PIP) et à la Céfazoline (CZ).</p> <p>L'efficacité des aminosides (Gentamicine,Amikacine)et des quinolones(Ciprofloxacine) reste très satisfaisante pour les souches isolées des eaux usées par contre ces antibiotiques sont inactifs sur les souches isolées des coprocultures et des urines .</p> <p>Au terme de cette étude nous rappelons l'utilisation rationnelle des antibiotiques en médecine et une surveillance de l'antibiorésistance des <i>E. coli</i> dans l'environnement.</p>		
Mots clés : β-lactamines, antibiotiques, résistance aux antibiotiques, <i>Escherichia coli</i>		
Laboratoire de recherche: Laboratoire de microbiologie		
Président de jury : Mr. HAMIDCHI M. A.	Professeur	Université Constantine 1
Encadreur : Mme BOUZERAIB L.	Maitre assistante	Université Constantine 1
Examineur: Mr. CHABBI R.	Maitre assistant	Université Constantine 1
Année universitaire 2013-2014		