

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE M'SILA

FACULTE des Sciences

DEPARTEMENT : Microbiologie & Biochimie



DOMAINE : SNV

FILIERE : Sciences Biologiques

N° :

OPTION : Microbiologie Appliquée

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par:

➤ **KARA Hadjer**

➤ **OULHI Sihem**

Intitulé

Caractérisation phénotypique de la résistance
aux antibiotiques chez des souches cliniques
d'*Escherichia coli*

Soutenu devant le jury composé de:

HENDEL Noui

MCB, Université de M'Sila Président

FREIDJA Mohamed lamine

MCB, Université de M'Sila Examineur

YAHIAOUI Merzouk

MCB, Université de M'Sila Promoteur

Année universitaire : 2018 / 2019



Remerciements

*Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire « microbiologie » de
l'Université Mohamed Boudiaf-M'Sila.*

*Tout d'abord, nous remercions Allah, le plus miséricordieux qui nous
a donné la santé et le courage de mener à bien cette formation.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur **YAHIAOUI Merzouk**,
maître de conférences au département SNV, université de M'Sila pour
sa rigueur scientifique, pour son assistance bien matérielle que morale,
pour son aide et son soutien.*

*Nous voudrions remercier également les membres du jury, le
Président **HENDEL Noui** et l'Examineur **FREIDJA Mohamed**
lamine maîtres de conférences au département SNV, université de
M'Sila pour avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.*

*Sans oublier dans notre merciement le responsable de laboratoire
Kamal SEGHIRI pour sa disponibilité avec une extrême
bienveillance et toute l'équipe du Laboratoire, pour leurs conseils et
leurs aides.*

*Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont
contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*





Dédicaces

Tout d'abord, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné foi, courage, patience et santé au cours de ce travail et même pour atteindre mon objectif.

Un grand merci aux parents qui m'ont suivi pendant mes études

A mes frères Ismaïl , Ibrahim, Fateh et Ishak

A mes sœurs Jawida , khadidja , sabeh , Zahra et en particulier la fille de ma sœur et ma bien-aimé Fella

A nos petits-enfants Ali, Basma, Aya

A mes oncles , mes tantes et en particulier ma tante warda

Sans oublier ma grand-mère Akrouma

A les femmes de mes frères Samira et Amel

A ma copine et binome Sihem à qui je souhaite la réussite dans sa vie

Je remercie mes amies qui étaient comme mes sœurs Yasmine, lamia, Salima , Zahra, Anwaar et Fardaws

HADJER



Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Dieu Tout Puissant qui nous a donné la santé et le courage de mener à bien cette formation.

A mes chers parents pour votre amour, votre confiance, votre soutien, et votre encouragement.

A mes chers frères : Tariq, Younes et sa femme Messaouda

A mes très chères sœurs : Mounira, Halima, Chaïma

A mon mari Keïreddine et sa famille.

A ma binôme Hadjer et ma tante Fatima

A tous mes amis Salima, Firdousse, Kanza pour leur soutien, leur aide et leur présence.

Siham

Résumé

Notre étude a porté sur 20 souches d'*Escherichia coli* isolées chez des patients ayant des infections urinaires communautaires. L'objectif était de caractériser sur le plan phénotypique la résistance à différentes molécules antibiotiques (26 molécules) utilisées en thérapeutique. La sensibilité des souches a été étudiée par la méthode de dilution et de diffusion des antibiotiques en milieu gélosé.

Les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec l'amoxicilline et la céfazoline (18 souches résistantes), ils ont été suivis par les sulfamides (12 souches résistantes). Viennent en troisième position l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim, la tétracycline, la kanamycine et l'acide nalidixique (7 souches résistantes). En quatrième position viennent le triméthoprim, le céfotaxime et le ceftriaxone (6 souches résistantes). Viennent en cinquième position la céftazidime et l'aztréonam (5 souches résistantes). En sixième position viennent l'amoxicilline-acide clavulanique, la gentamycine, l'ofloxacine, la pefloxacine et la ciprofloxacine (4 souches résistantes). En dernière position viennent le céfépime, le cefpirome et la cefoxitine (2 souches résistantes). La netilmycine, l'amikacine, la colistine et fosfomycine ont été actifs sur toutes les souches. L'analyse du profil de sensibilité à l'ensemble des antibiotiques testés sur les 20 souches a montré 2 souches sensibles à tous les antibiotiques. Pour le reste des souches, 16 profils de résistance ont été mis en évidence, ils comprennent un nombre de résistance allant de 2 à 13 molécules, répartis sur 1 à 5 familles d'antibiotiques. Parmi ces souches résistantes, 10 ont été des MDR « Multi Drug Resistance » (résistants à au moins trois familles d'antibiotiques).

ملخص

إن دراستنا لـ 20 سلالة من *Escherichia coli* المعزولة من المرضى الذين يعانون التهابات المسالك البولية تهدف إلى تحديد المقاومة المظهرية المضادات الحيوية المختلفة (26 جزيئة) المستخدمة في العلاج، حيث تمت دراسة حساسية هذه السلالات بواسطة طريقة التخفيف وانتشار المضادات الحيوية في وسط أجار .

أظهر تحليل حساسية سلالاتنا للمضادات الحيوية مقاومة لمعظم الجزيئات التي تم اختبارها باستخدام معدلات انتشار مختلفة وقد لوحظت أعلى مستويات المقاومة مع الأموكسيسيلين والسيفازولين 18 سلالة مقاومة ، تليها السلفوناميدات 12 سلالة مقاومة . المجموعة الثالثة هي سلفاميثوكسازول -تريميثوبريم ، التتراسيكلين ، كاناميسين، وحمض الناليديكسيك 7 سلالات مقاومة ، في المرتبة الرابعة هي تريميثوبريم، سيفوتاكسيم، وسيفترياكسون 6 سلالات مقاومة وخامسا سيفازيديم و أزتريونام 5 سلالات مقاومة . في المركز السادس ، حمض أموكسيسيلين - كلافولانيك، جنتاميسين، أوفلوكساسين، بفلوكساسين وسيفروفلوكساسين 4 سلالات مقاومة. في آخر مكان يأتي سيفيبيم ، سيفيبيروم وسيفوكيتين سلالتان مقاومتان. و كل من نتيلميسين، أميكاسين، كوليسيتين وفوسفوميسين فعالين في جميع السلالات .

أظهر تحليل مظهر الحساسية لجميع المضادات الحيوية التي تم اختبارها على 20 سلالة ، سلالتين حساستين لجميع المضادات الحيوية ، بالنسبة لبقية السلالات تم تسليط الضوء على 16 صورة مقاومة وهي تشمل عددًا من المقاومة تتراوح من 2 إلى 13 جزيئة موزعة من 1 إلى 5 عائلات من المضادات الحيوية ، من بين هذه السلالات المقاومة 10 كانت " MDRs مقاومة الأدوية المتعددة "(مقاومة لثلاث عائلات على الأقل من المضادات الحيوية).

Abstract

Our study of 20 strains of *Escherichia coli* isolated from patients with UTIs aims to identify the different antibiotic resistance (26) of the drug used in the treatment. The sensitivity of these strains was studied by the method of dilution and spread of antibiotics in the middle of agar.

The sensitivity analysis of our antibiotic strains showed resistance to most of the molecules tested using different propagation rates. The highest resistance levels were observed with amoxicillin and ceftazidime 18 resistant strains, followed by 12 resistant sulfonamides. The third group is sulfamethoxazole - trimethoprim, tetracycline, kanamycin, nalidixic acid and 7 resistant strains. In fourth place are trimethoprim, ciprofloxacin, ceftriaxone, 6 resistant strains, 5 ceftazidime and azithromycin 5 resistant strains. In sixth place, amoxicillin-clavulanic acid, gentamicin, ofloxacin, fluoroquinolones and ciprofloxacin 4 resistant strains. In the last place comes Ciprofloxacin, Siprofloxacin and Siprofloxacin, two resistant baskets. Both ciprofloxacin, amikacin, colistin and phosphomycin are effective in all breeds.

The analysis showed the sensitivity of all antibiotics tested on 20 strains, two sensitive strains of all antibiotics. For the rest of the strains, 16 resistant images were highlighted. They included a number of resistance ranging from 2 to 13 molecules distributed from 1 to 5 families of antibiotics. Of these resistant strains, 10 were MDRs (resistant to at least three antibiotic families).

Liste des abréviations

A/E : Attachement/Effacement

ABC : ATP Binding Cassette

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AIEC : Adhérente Invasive *Escherichia Coli*

API : Analytical Profil Index

ATP : Adénosine Triphosphate

BHIB : Bouillon Cœur Cerveau

BLSE : Les β -lactamases à Spectre Etendu

BN : Bouillon Nutritif

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} Génération

CA-SFM : Comité de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CTX-M : Céfotaximase-Munich

DAEC : *Escherichia coli* à Adhésion Diffuse

DDS : Double Disk Synergy

DO : Densité Optique

E. *Coli* : *Escherichia Coli*

EAEC : Entéroaggrégative *Escherichia Coli*

EAF : *Escherichia coli* Adhésion Factor

ECBU : Examen Cytobactériologique Des Urines

EHEC : Entérohémorragique *Escherichia Coli*

EIEC : Entéroinvasive *Escherichia Coli*

EPEC : Entéropathogène *Escherichia Coli*

ETEC : Entérotoxinogène *Escherichia Coli*

ExPEC : responsables de Pathologies Extra-Intestinales *Escherichia Coli*

Gyr : Gyrase

IUC : Infections Urinaires Communautaires

KDa : Kilo-Dalton

LB : Luria-Bertani

LEE : Locus d'Effacement des Entérocytes

MAR : Multiple Antibiotic Resistance

MDR : Multi Drug Resistance

MFP : Membrane Fusion Protein

MFS : Major Facilitator Superfamily

MH : Mueller Hinton

Omp : Outer membrane protein

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PAI : Ilot de Pathogénicité

PBP : Penicillin Binding Proteins

PLP : Protéines Liant la Pénicilline

PMQR : Plasmid Mediated Quinolone Resistance

Qep : Quinolone efflux pump

Qnr : Quinolone resistance

QRDR : Quinolone Resistance Determining Region

R: Résistant

RND : Resistance-Nodulation cell Division

S : Sensible

SHV: Sulfhydryque Variable

SMR : Small Multidrug Resistance

β-lactamines : béta -lactamines

Liste des figures

Figure 1 : Cycle β -lactame	3
Figure 2 : Classes d'antibiotiques à base d'anneau bêta-lactame, Le noyau bêta-lactame (rouge) est commun à toutes les molécules de cette famille et confère l'activité antibiotique.	4
Figure 3 : Mode d'action des bêta-lactamine	6
Figure 4 : Structure des systèmes d'efflux actif.....	8
Figure 5 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame	9
Figure 6 : Mode d'action des bêta-lactamases chez les bactéries à gram négatif	9
Figure 7 : Structure de quinolone.	12
Figure 8 : les différentes classes de quinolones.....	13
Figure 9: Mécanisme d'action des quinolones.....	14
Figure10 : système de galerie biochimique Api 20 ^E	21
Figure 11 : Production de β -lactamses à spectre élargi chez 2 souches d' <i>E.coli</i> (test DDS).	32

Liste des tableaux

Tableau I: Protéines liant la pénicilline intervenant dans la synthèse du peptidoglycane chez <i>E. coli</i>	5
Tableau II: Classification des β -lactamases selon Amber.....	11
Tableau III: informations concernant les patients chez qui les souches ont été prélevées	19
Tableau IV: indications pour l'interprétation des tests biochimiques d'une galerie API 20 ^E	21
Tableau V: Liste d'antibiotiques en disques utilisés pour l'antibiogramme.....	25
Tableau VI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries.....	26
Tableau VI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (suite).....	27
Tableau VII: Résultats de l'identification bactérienne par le système de galerie API20 ^E	28
Tableau VIII: Résultats de la sensibilité des 20 souches d' <i>E. coli</i> aux bêta-lactamines .	30
Tableau IX: Résultats de la sensibilité des 6 souches à profil de résistance élargie aux C3G (méthode de diffusion en milieu gélosé	33
Tableau X : Résultats du test de synergie chez les 6 souches à profil de résistance élargi aux C3G	33
Tableau XI : Profils de résistance aux bêta-lactamines et phénotypes de résistance suspectés.....	34
Tableau XIV: CMI de la ciprofloxacine chez les souches d' <i>E. coli</i> résistantes	36
Tableau XIII: Résultats de la sensibilité des souches aux molécules non bêta-lactames (méthode de diffusion en milieu gélosé	37
Tableau XV: Profils de résistance aux antibiotiques chez 20 souches d' <i>E.coli</i>	38

SOMMAIRE

Remerciement.....	I
Dédicace.....	II
Résumé.....	IV
Liste des abréviations.....	VI
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux.....	IX
Introduction	1
I.Pathogénicité intestinale des <i>E. Coli</i>	2
II. Les antibiotiques.....	2
II.1. Définition.....	2
II.2. Classes d'antibiotiques	2
II.2.1. Les β -lactamines et la résistance bactérienne	2
II.2.1.1. Caractéristiques.....	2
II.2.1.2. Structure	3
II.2.1.3. Classification des β -lactamines	3
II.2.1.4. Mécanisme d'action des β -lactamines	4
II.2.1.5. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	6
II.2.1.5.1. Mécanismes non enzymatiques	7
II.2.1.5.1.1. Diminution de la perméabilité	7
II.2.1.5.1.2. Hyperproduction de système d'efflux	7
II.2.1.5.1.3. Modification de la cible.....	8
II.2.1.5.2. Mécanismes enzymatiques par production de β -lactamases.....	9
II.2.1.5.2.1. Mécanisme d'action des β -lactamases	9
II.2.1.5.2.2. Classification des β -lactamases	10
II.2.2. Les quinolones/fluorquinolones et la résistance bactérienne	12
II.2.2.1. Structure des quinolones	12

II.2.2.2. Classification des quinolones.....	13
II.2.2.3. Mécanisme d'action	14
II.2.2.4. Mécanismes de Résistance aux quinolones	15
II.2.2.4.1. La résistance chromosomique	15
II.2.2.4.1.1. Modification de cible	15
II.2.2.4.1.2. La diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux.....	15
II.2.2.4.2. La résistance plasmidique	16
II.2.2.4.2.1. Les gènes <i>qnr</i>	16
II.2.2.4.2.2. le gène <i>aac(6')-Ib-cr</i>	17
II.2.2.4.2.3. Le gènes <i>qepA</i>	17
II.2.2.4.2.4. La pompe d'efflux OqxAB	17

Méthodes et matériels

I. Matériel

I.1. Souches étudiées.....	18
I.2. Milieux de culture.....	18
I.3. Tests biochimiques.....	18
I.4. Les antibiotiques	18

II. Méthodes

II.1. Prélèvements.....	20
II.2. Identification bactérienne.....	20
II.2.1. Principe	20
II.2.2. Technique.....	20
II.2.3. Lecture	20
II.3. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	22
II.3.1. Méthode de dilution en milieu solide.....	22
II.3.2. Antibiogramme « méthode de diffusion sur milieu solide ».....	22
II.3.2.1. Technique:	22
II.3.2.2. Lecture:	23
II.3.3. Détermination des CMI en milieu solide.....	23

II.3.4. Détection des bêta-lactamases à spectre élargi « BLSE ».....	23
II.3.4.1. Principe du test de synergie.....	23
II.3.4.2. Technique.....	23
II.3.4.3. Lecture	24

Résultats

I. Identification bactérienne.....	28
II. Sensibilité des souches aux antibiotiques.....	29
II.1. Sensibilité des souches aux bêta-lactamines.....	29
II.1.1. Phénotypes de résistance.....	29
II.1.2. Production de bêta-lactamases à spectre élargi	31
II.2. Sensibilité des souches aux non bêta-lactames.....	35
II.3. Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine	36
Discussion.....	39
Conclusion.....	45

Références bibliographiques

Introduction

INTRODUCTION

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et au genre *Escherichia*. Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et une très rare qui a été isolée de la blatte, d'où son nom *E. blattae*.

E. coli est une espèce d'entérobactérie dont les représentants ont des modes de vie variés, son principal habitat est le tube digestif des vertébrés dont l'homme où elle fait partie de la flore commensale. De plus, *E. coli* est un redoutable pathogène, à l'origine de nombreuses infections intestinales et extra-intestinales. Parmi les *E. coli* pathogènes extra-intestinales (ExPEC), on distingue les uropathogènes qui sont la cause majeure des infections urinaires.

Ces infections sont parmi les maladies les plus courantes dans le monde, elles sont la cause de morbidité et de mortalité importantes. Le pouvoir pathogène de ces souches est lié à l'expression de divers facteurs de virulence qui leur permettent d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte, il est aussi lié à l'émergence de la résistance aux antibiotiques.

Cependant, l'augmentation du niveau de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* dans les années 2000 avec l'apparition des BLSE de type CTX-M conférant la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, a mené à l'émergence de souches d'*E. coli* à la fois virulente et résistante aux différentes classes d'antibiotiques utilisés en thérapeutique, ce qui complique la prise en charge des infections dues aux souches ExPEC.

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un travail de recherche, mené au laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Equipe de Génétique, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumedien d'Alger, portant sur la virulence et la résistance aux antibiotiques de souches cliniques d'*Escherichia* à l'origine d'infections urinaires communautaires.

Données bibliographiques

I- Pathogénicité des *E. Coli*

Les souches *E. coli* pathogènes sont classées en fonction des symptômes cliniques qu'elles entraînent. Cette classification regroupe les *E. coli* responsables de pathologies intestinales (IPEC) et les *E. coli* responsables de pathologies extra-intestinales (ExPEC) (**Kohler et Dobrindt , 2011**). Il existe sept catégories d'IPEC chez l'homme, ETEC, EPEC, EHEC, EAEC, EIEC, DAEC et AIEC (**Servin et al., 2014**). La caractéristique des souches d'IPEC est la présence de facteurs de virulences jouant un rôle décisif dans la pathogénèse et permet ainsi de les discriminer des souches d'*E. coli* non pathogènes et des ExPEC (**Kohler et Dobrindt , 2011**). La pathogénicité bactérienne résulte d'un processus multifactoriel, impliquant de nombreux gènes qui peuvent être transmis d'une bactérie à l'autre via différents mécanismes de transferts horizontaux.

II. Les antibiotiques

II.1. Définition

Un antibiotique est une substance naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui à faible concentration, tue ou inhibe la croissance des microorganismes, mais n'affecte pas (ou peu) l'hôte. Plus précisément, un antibiotique est un antibactérien utilisé pour traiter les infections chez l'homme et chez les animaux (**WHO et al., 2011**). Après la découverte de la pénicilline par A. Fleming en 1929, l'usage des antibiotiques en médecine humaine et animale n'a débuté que vers le milieu des années 1940. Dans les années 1950 et 1960, le nombre de familles d'antibiotiques et de molécules disponibles a augmenté, ainsi que leur utilisation.

II.2. Classes d'antibiotiques

II.2.1. Les β -lactamines et la résistance bactérienne

II.2.1.1. Caractéristiques

Les β -lactamines ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance. Il existe de nombreuses variétés de β -lactamines, ayant toutes en commun le cycle β -lactame, constituent la famille la plus fréquemment utilisée dans le monde, pour leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide temps-dépendant, leur faible toxicité (**Livermore et al., 1995 ; Ferech et Coenen , 2006 ; Vander-Stichele et al., 2006**). Les antibiotiques formant la famille des β -lactamines, sont utilisés pour le traitement d'environ 55 % de toutes les

infections bactériennes, en raison de leur grande efficacité et au peu d'effets secondaires qui leur sont attribués (Matagne *et al.*, 1999 ; Schroeder *et al.*, 2002 ; Fisher *et al.*, 2005).

II.2.1.2. Structure

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame (**figure 1**), 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 (Fisher *et al.*, 2005).

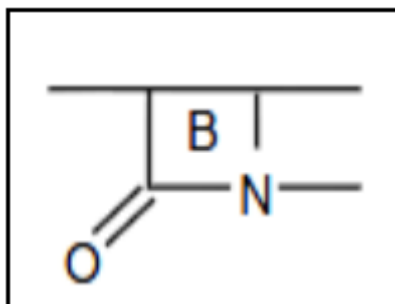


Figure 1 : Cycle β -lactame (Cavallo *et al.*, 2004)

II.2.1.3. Classification des β -lactamines

Elles partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β -lactame et pour la plupart d'entre elles, un second cycle (**Figure 2**). Ainsi, en fonction des cycles et des chaînes latérales associées, on distingue (Chaabane *et al.*, 2009) :

- **Les pénicillines également appelées les pénames** : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale (Nauciel *et al.*, 2000).
- **Les céphalosporines** : constituées d'un noyau β -lactame associé à un noyau dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique (noyau céphème) (Yala *et al.*, 2001).
- **Les carbapénèmes** : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présenté sur les céphalosporinases (Wolff *et al.*, 2009).
- **Les monobactames** : le noyau est limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine (Chaabane *et al.*, 2009).

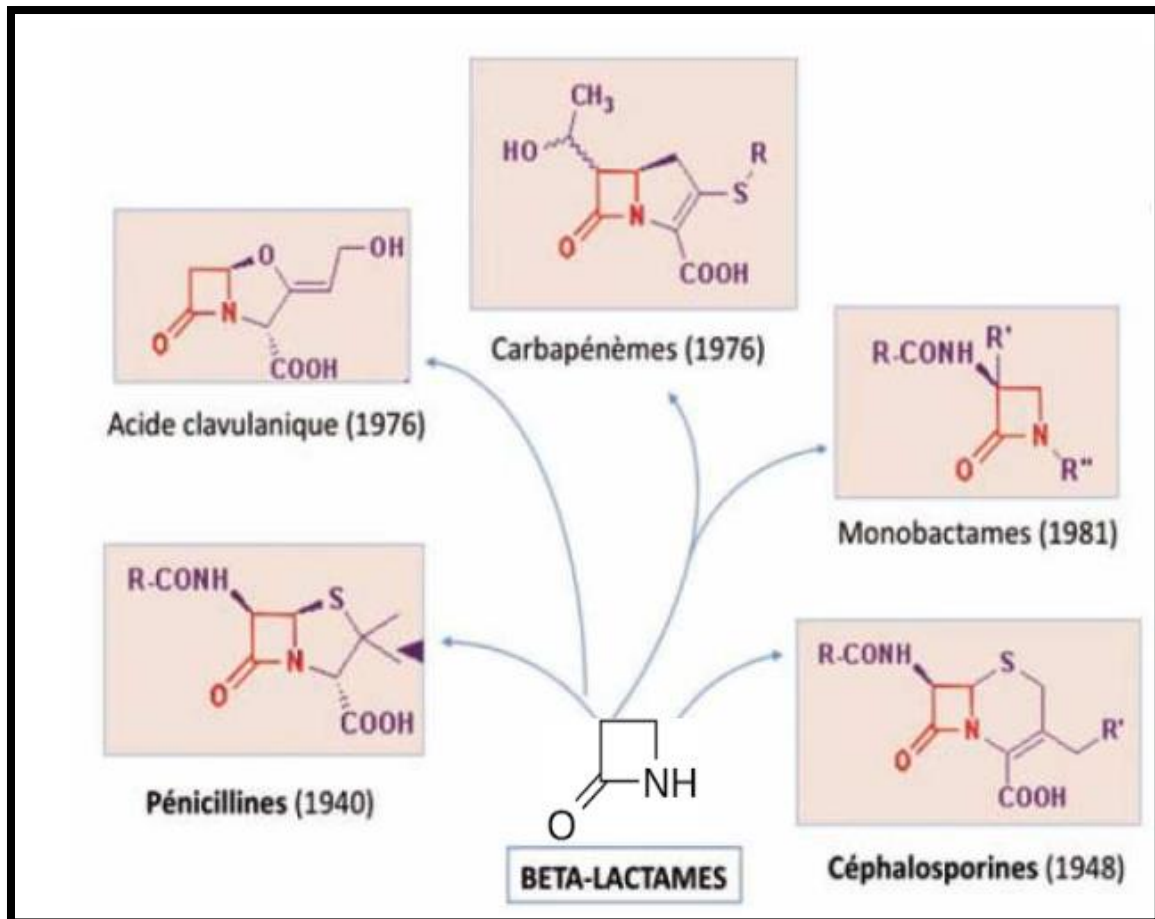


Figure 2 : Classes d'antibiotiques à base d'anneau bêta-lactame, Le noyau bêta-lactame (rouge) est commun à toutes les molécules de cette famille et confère l'activité antibiotique (Comte *et al.* , 2012).

II.2.1.4. Mécanisme d'action des β -lactamines

Les cibles des β -lactamines sont les protéines liant la pénicilline (PLP), situées sur la surface de la membrane cytoplasmique. La membrane externe représente la seule barrière de perméabilité importante pour la pénétration des β -lactamines. Les β -lactamines empruntent principalement la voie des porines pour franchir la membrane externe. Les porines sont des protéines de 35 à 40 kDa formant dans la membrane externe des canaux aqueux permettant une diffusion passive des molécules hydrophiles de masses moléculaires inférieures à 600 Da. La taille, la charge et l'hydrophobicité des β -lactamines conditionnent leur capacité à diffuser à travers la membrane. Les PLP sont des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, à savoir des glycosyltransférases, des transpeptidases et des carboxypeptidases. Généralement, seules les glycosyltransférases et les transpeptidases sont sensibles à l'action des β -lactamines. Ces enzymes sont classées en fonctions de leur poids

moléculaire. Chez *E. coli*, les enzymes de poids moléculaires élevés sont les PLP1A, 1B, 1C, 2 et 3 et celles de faible poids moléculaire sont des carboxypeptidases. Le tableau I récapitule les différentes PLP intervenant dans la synthèse du peptidoglycane lors de la division cellulaire chez *E. coli* (Courvalin *et al.*, 2012a ; Typas *et al.*, 2012).

Tableau I: Protéines liant la pénicilline intervenant dans la synthèse du peptidoglycane chez *E. coli* (Typas *et al.*, 2012).

Fonction	Activités enzymatiques	Protéines	Caractéristiques
Synthèse du peptidoglycane	Glycosyltransférases-transpeptidases	PLP1A	● Intervient dans la synthèse du peptidoglycane, principalement au moment de l'élongation cellulaire ● ancré dans la membrane interne
		PLP1B	● Intervient dans la synthèse du peptidoglycane, principalement au moment de la division cellulaire ● ancré dans la membrane interne
		PLP1C	● Rôle cellulaire inconnu ● ancré dans la membrane interne
	Glycosyltransférases	PLP2	● Essentiel lors de l'élongation cellulaire ● ancré dans la membrane interne
		PLP3	● Essentiel lors de la division cellulaire ● ancré dans la membrane interne
Régulation structurale du peptidoglycane	Carboxypeptidases	PLP5, PLP 4L, PLP6 et PLP6L	● Rôle dans la régulation de la synthèse du peptidoglycane
Hydrolyse du peptidoglycane	Endopeptidases	PLP4 et PLP7	● Intervient lors de la séparation du septum ● Intervient dans la formation de Biofilm

Les β -lactamines présentent une analogie structurale avec le dipeptide D-Ala-D-Ala qui constitue le substrat naturel des PLP. L'antibiotique se fixe sur le site actif des PLP, entraînant l'ouverture du cycle β -lactame. L'ouverture de ce cycle entraîne la formation d'une liaison covalente, activant l'effet catalytique des PLP (**figure 3**). L'effet des β -lactamines dépend de leur affinité pour les différentes PLP. En effet, la plupart des céphalosporines ont une affinité pour les PLP1A et 3. L'inhibition des PLP entraîne l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et donc un arrêt de la croissance bactérienne. Un effet bactéricide est également observé. Celui-ci résulte de l'inhibition des PLP, entraînant une altération du peptidoglycane qui induirait une activation d'autolysines comme la muréine hydrolase ou une endopeptidase. Cette

activation enzymatique conduit à la lyse bactérienne (Jehl *et al.*, 2004; Courvalin *et al.*, 2012b).

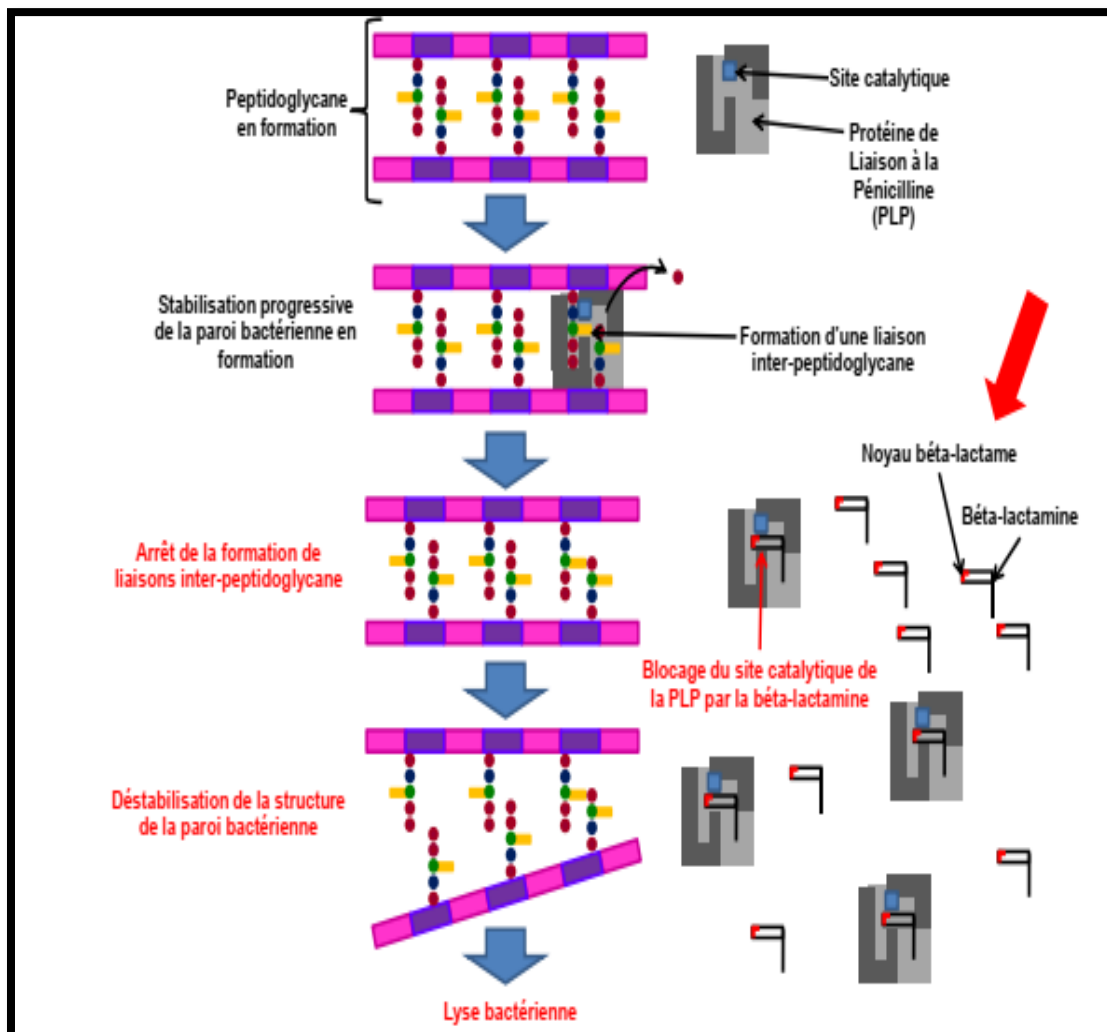


Figure 3 : Mode d'action des bêta-lactamine (Kohanski *et al.*, 2007).

II.2.1.5. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques, ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique (exemples : les sites de liaison des pénicillines, (PBP), ce qui empêche la fabrication de la paroi de la bactérie). Mais le plus

fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les β -lactamines, les β -lactamases (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

II.2.1.5.1. Mécanismes non enzymatiques

II.2.1.5.1.1. Diminution de la perméabilité

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. Ainsi, la sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (**Kumar et Schweizer, 2005**).

II.2.1.5.1.2. Hyperproduction de système d'efflux

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif, chez les entérobactéries comme *E. coli* (**Walsh et al., 2003**). Il s'agit de transporteurs protéiques transmembranaires qui tirent leur énergie soit de la force proton-motrice, soit de l'hydrolyse de l'ATP. Leur fonction native est d'éliminer à l'extérieur de la bactérie des constituants inutiles à celle-ci et présents dans son cytoplasme. Ces pompes moléculaires permettent une sortie d'antibiotique plus rapide que l'entrée ; ainsi, la concentration intracellulaire d'antibiotique demeure à un niveau faible et inefficace (**Edgar et Bibi, 1997 ; Walsh et al., 2000 ; Courvalin et al., 2008**). Ces pompes peuvent contribuer à des résistances intrinsèques ou acquises (**Poole et al., 2002**).

Quatre familles de pompes à efflux sont impliquées dans la résistance aux antibiotiques (**figure 4**) : la famille ABC (ATP Binding Cassette) qui rassemble des transporteurs primaires hydrolysant l'ATP, et les familles RND (Resistance Nodulation and cell Division), MSF (Major Facilitation Superfamily) et SMR (Small Multidrug Resistance) qui correspondent à des transporteurs secondaires utilisant le gradient de protons (H^+) (**Tremblay et al., 2007 ; Courvalin et al., 2008**).

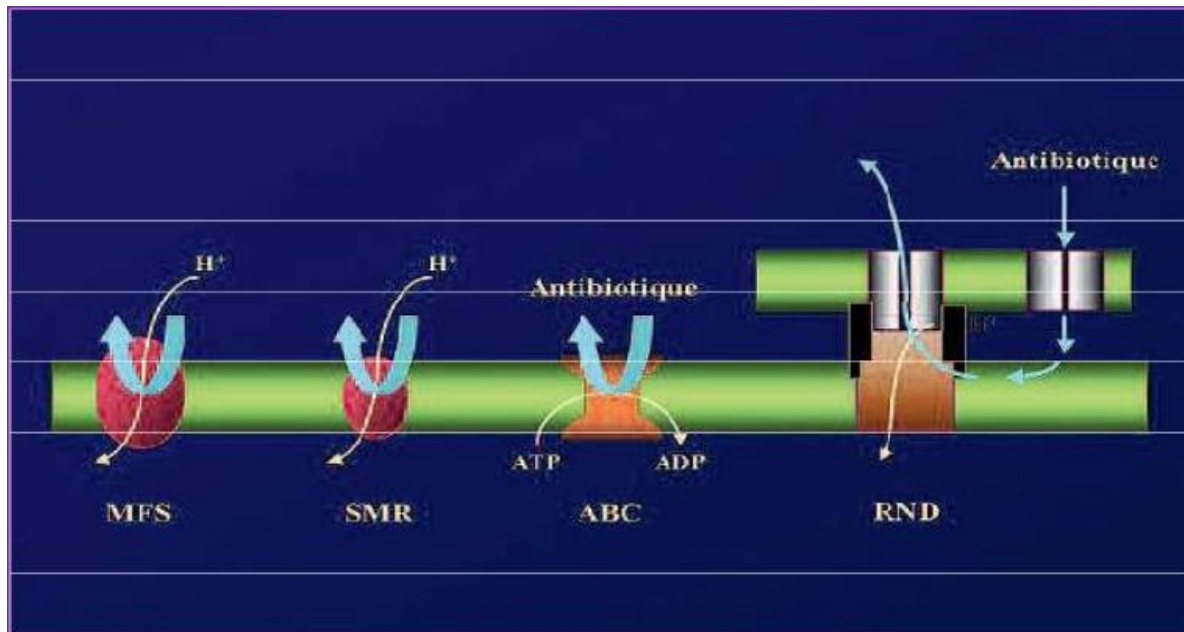


Figure 4 : Structure des systèmes d'efflux actif (Courvalin *et al.*, 2008).

II.2.1.5.1.3. Modification de la cible

Des modifications même minimales affectant la cible d'un antibiotique peuvent modifier et diminuer l'affinité des deux (cible-antibiotique) et entraîner une résistance. La résistance aux β -lactamines par altération des PLP a été décrite, mais ne semble pas être un mécanisme prédominant pour les entérobactéries ou d'autres espèces de bacilles Gram négatif comme *P. aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Ainsi, une résistance aux β -lactamines touchant essentiellement l'imipénème et le mércillinam a pu être décrite chez une souche de *Proteus mirabilis* productrice d'une PLP2 altérée (Cavallo *et al.*, 2004).

Ces mécanismes de résistance font suite à des mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour les PLP normales ou à l'acquisition de gènes étrangers codant pour des PLP ayant peu d'affinité pour les β -lactamines. On peut ainsi aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLP, avec diminution d'affinité pour les β -lactamines, ou à une substitution dans leurs fonctions des PLP cibles par une autre PLP de moindre affinité (Cavallo *et al.*, 2004).

II.2.1.5.2. Mécanismes enzymatiques par production de β -lactamases

La résistance enzymatique aux β -lactamines par production d'enzymes inactivatrices ou β -lactamases constitue de loin le mécanisme le plus répandu chez les bactéries.

II.2.1.5.2.1. Mécanisme d'action des β -lactamases

Le mécanisme majeur de résistance aux β -lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif, est la production de β -lactamases (Poole *et al.*, 2004 ; Doi et Paterson, 2007), enzymes qui hydrolysent la liaison amide du noyau β -lactames, de ces antibiotiques en les empêchant ainsi d'aller se lier à leurs cibles qui sont les protéines liant la pénicilline (PLPs) (figures 5 et 6) (Walsh *et al.*, 2000 ; Poole *et al.*, 2004 ; Zomahoun *et al.*, 2005).

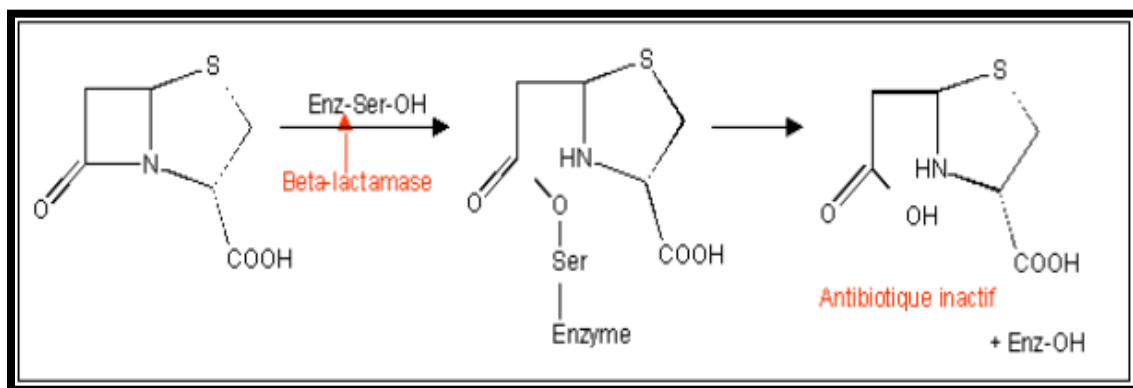


Figure 5: Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (Barrial et Scotet, 2006).

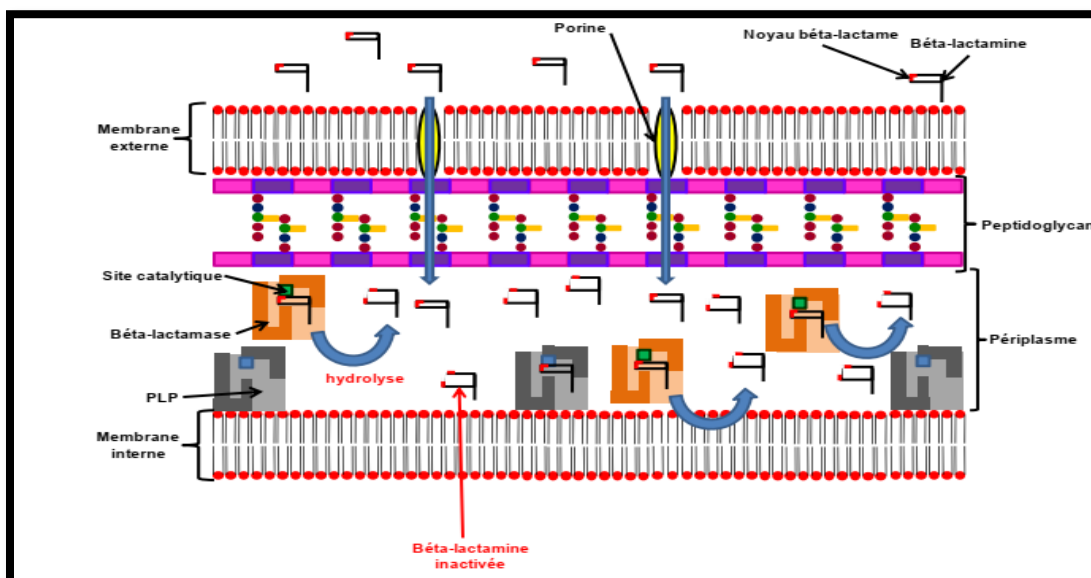


Figure 6 : Mode d'action des bêta-lactamases chez les bactéries à Gram négatif (Babic *et al.*, 2006).

II.2.1.5.2.2. Classification des β -lactamases

La classification moléculaire des β -lactamases (Classification d'Ambler) est basée sur la similitude de leurs séquences nucléotidiques et celles d'acides aminés (**Bradford *et al.*, 2001**). Quatre classes moléculaires de β -lactamases sont connues (**tableau II**), dont les pénicillinases classe A, les métallob- β -lactamases classe B, les céphalosporinases classe C et les oxacillinases classe D. Les enzymes de classes A, C, et D ont la serine comme site actif tandis que les enzymes de classe B ont besoin de l'ion zinc pour effectuer leur activité catalytique (**Poole *et al.*, 2004 ; Doi et Paterson, 2007**).

➤ **Les pénicillinases** : Ces enzymes peuvent être produites par les bactéries Gram négatives comme par celle à Gram positif. Elles ont pour substrat préférentiel les pénicillines (**Zomahoun *et al.*, 2005**) et elles peuvent appartenir aux classes A et D.

➤ **Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)** : Les BLSE sont typiquement codées par les plasmides mais elles sont également présentes sur les chromosomes, souvent en association avec les intégrons. Elles sont généralement inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases, et sont produites par les bactéries Gram négatives auxquelles elles confèrent une résistance aux pénicillines, céphalosporines (première, deuxième et troisième génération) et monobactames (**Poole *et al.*, 2004; Akujobi *et al.*, 2008**), tout en conservant leur sensibilité aux céphalosporines de quatrième génération et aux carbapénèmes (**Poole *et al.*, 2004**). Ces enzymes dérivent, principalement, des bétalactamases de classes A (TEM-1, TEM-2, SHV-1). Des BLSE de classe D (OXA) sont également connues.

➤ **Les céphalosporinases** : Les céphalosporinases de classe C (AmpC) sont produites par de nombreuses bactéries Gram négatif. Elles ont un large spectre d'activité contre la plupart des pénicillines et céphalosporines incluant, dans de nombreux cas, les céphalosporines de quatrième génération et les monobactams avec des spécificités variées (**Sundin *et al.*, 2009**). Elles sont inefficaces contre les carbapénèmes et relativement insensibles aux inhibiteurs de β -lactamases. Les gènes codant les AmpC ont une localisation chromosomique ou plasmidique, et beaucoup d'entre eux sont associés à des intégrons et des transposons (**Walther-Rasmussen et Hoiby, 2002**). Les plasmides codants les AmpC peuvent également porter des déterminants de résistance à des antibiotiques autres que les β -lactamines entraînant, ainsi, l'apparition de multirésistance.

➤ **Les Carbapénémases** : La majorité des carbapénémases appartiennent aux β -lactamases de classes A et B. En plus des carbapénèmes, ces enzymes peuvent hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines et l'aztréonam et elles sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam (Moland *et al.*, 2008). Ces enzymes sont portées par les plasmides ou les chromosomes.

Tableau II: Classification des β -lactamases selon Amber (Pfeifer *et al.*, 2010).

	Classe β -lactamase	β -lactamase	Exemples d'enzymes	Espèces/genres	Résistance phénotypique Spectre d'action
Sérine- β -lactamases	A	β -lactamases à large spectre	TEM-1, TEM-2, SHV-1, SHV-11	<i>Enterobacteriaceae</i>	Ampicilline, Céphalotine
		BLSE de type TEM	TEM-3, TEM 52		Pénicilline, Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
		BLSE de type SHV	SHV-5, SHV-12		
		BLSE de type CTX-M	CTX-M-1, CTX-M-15		
		Carbapénémases	KPC, GES, SME		Toutes les β -lactamines
	C	AmpC Céphamycinases chromosomiques	AmpC	<i>Enterobacter spp</i> <i>Citrobacter spp</i>	Céphamycines (Céfoxitine), Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
	D	AmpC Céphamycinases plasmidiques	CMY, DHA, MOX, FOX, ACC	<i>Enterobacteriaceae</i>	Céphamycines (Céfoxitine), Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
		β -lactamases large spectre	OXA-1, OXA-9	<i>Enterobacteriaceae</i>	Oxacilline, Ampicilline, Céphalotine
		BLSE de type OXA	OXA-2, OXA-10		Pénicilline, Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
		Carbapénémases	OXA-48, OXA-23, -24, -58		Ampicilline, Imipénème, toutes les β -lactamines
Métallo- β -lactamases	B	Métallo- β -lactamases	VIM, IMP	<i>Enterobacteriaceae</i>	toutes les β -lactamines

II.2.2. Les quinolones/fluorquinolones et la résistance bactérienne

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire, a été découverte en 1962. Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité (**Cattoir et al., 2012**). Parmi eux, les fluoroquinolones (L'addition d'un atome de fluor en position C-6 et d'un noyau pipérazinyl en position C-7) qui sont actifs notamment sur les bacilles à Gram négatif (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Elles sont largement prescrites dans les infections urinaires, respiratoires, génitales, osseuses, méningées, abdominales (**Ansart et al., 2005**).

II.2.2.1. Structure des quinolones

La structure chimique des quinolones est conservée au sein de cette famille, puisqu'elle dérive de la structure de l'acide nalidixique, le premier quinolone découvert (**Fabrega et al., 2009**). Ce sont des molécules possédant deux noyaux cycliques différents liés l'un à l'autre, avec un azote en position 1. Un des cycles contient un groupement acide carboxylique et un groupement carbonyle, respectivement en position 3 et 4, qui jouent un rôle majeur dans l'activité des quinolones (**Figure 7**) (**Fabrega et al., 2009**).

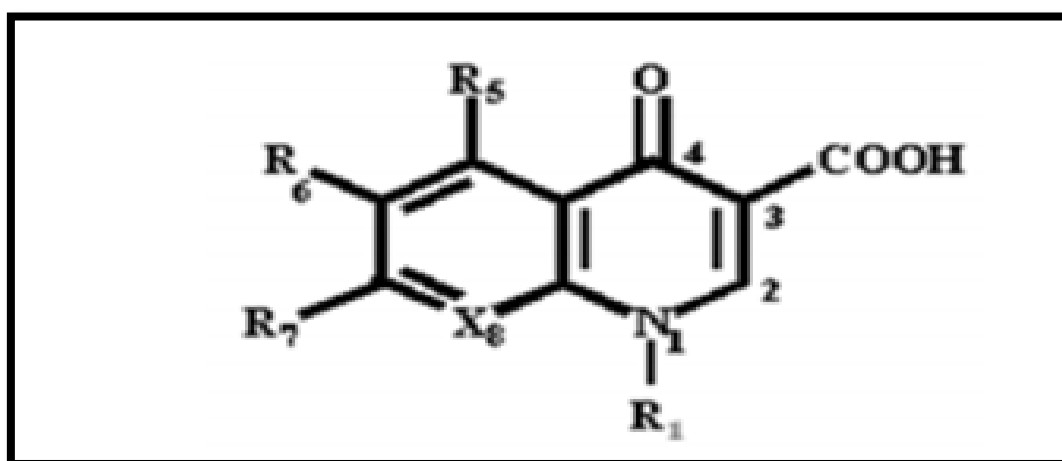


Figure 7 : Structure des quinolones (Fabrega et al., 2009).

II.2.2.2. Classification des quinolones

Les quinolones peuvent être classées en quatre générations (**figure 8**). D'une génération à l'autre, le spectre d'activité s'élargit en incluant un nouveau groupe de pathogènes.

- Les premières quinolones, dites de **première génération**: acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, comprennent des molécules à spectre étroit, utilisées dans le traitement des infections urinaires dues aux entérobactéries.
- Les quinolones de **deuxième génération**: norfloxacin, ofloxacin, péfloxacin, ciprofloxacin, présentent un spectre élargi à d'autres bacilles à Gram négatif.
- Les quinolones de **troisième génération** ou dites fluoroquinolones: sparfloxacin, lévofloxacin, moxifloxacin.
- Les quinolones de **quatrième génération**: trovafloxacin, gatifloxacin présentant une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (**Cattoir et al., 2012**).

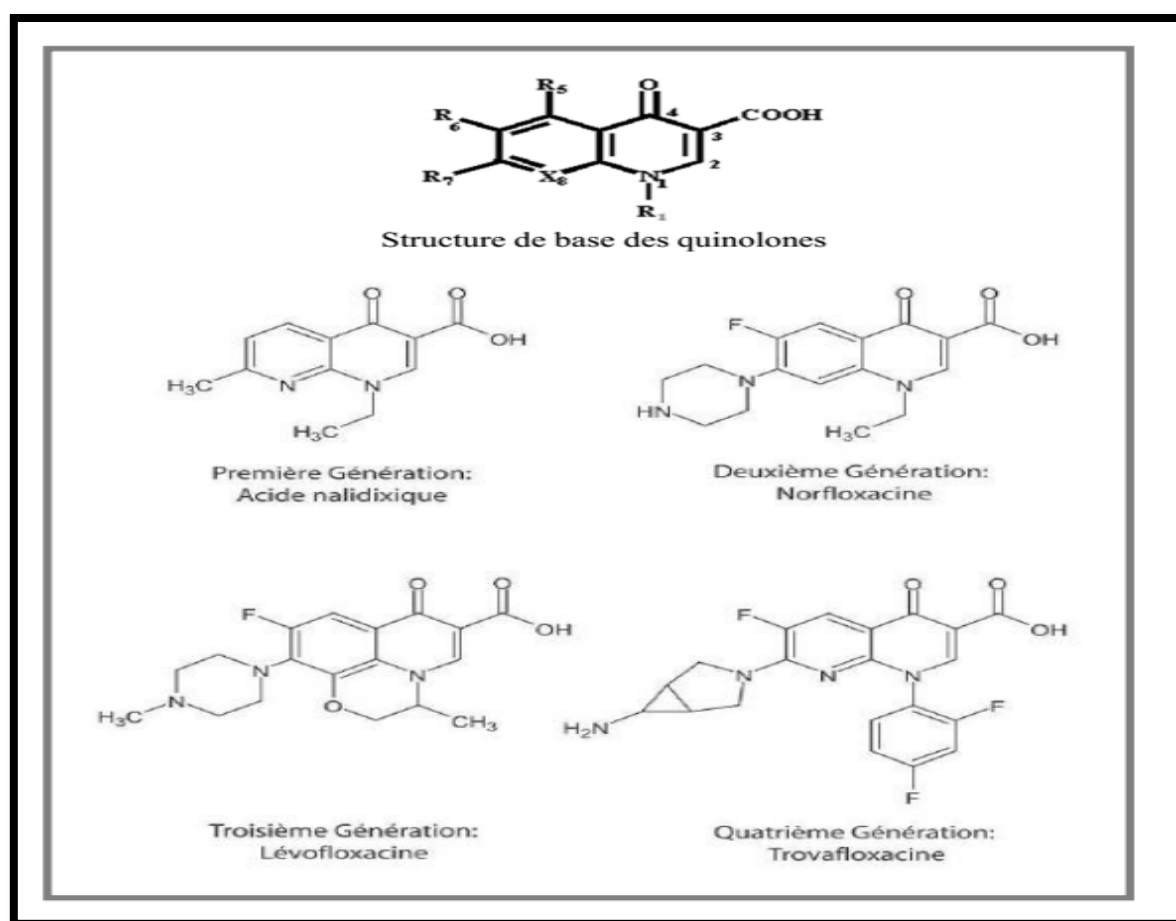


Figure 8 : les différentes classes de quinolones (**Fabrega et al., 2009**).

II.2.2.3. Mécanisme d'action

Les cibles des quinolones sont les topoisomérases II (ou gyrase) et IV, qui sont deux enzymes impliquées dans le bon déroulement de la réplication de l'ADN au cours de la croissance bactérienne et qui sont donc essentielles à la survie de la bactérie (**Bryskier *et al.*, 2005**).

Les quinolones inhibent les topoisomérases de type II (gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication (**figure 9**). L'ADN gyrase introduit un super-enroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien. Cette activité est essentielle pour l'initiation de la réplication de l'ADN ainsi que pour sa transcription (**Levine *et al.*, 1998**). La topoisomérase IV a une activité de décaténation, qui permet la séparation des chromosomes répliqués à la fin d'une séquence de réplication (**Zechiedrich *et al.*, 1997**). Les quinolones interagissent avec le complexe enzyme-ADN (la gyrase ou la topoisomérase IV) et provoquent des changements conformationnels entraînant une désactivation de l'enzyme (**Drlica et Zhao, 1997**). Le complexe quinolone-enzyme-ADN ainsi formé, bloque la progression de la fourche de réplication ce qui inhibe la synthèse de l'ADN et conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne. De plus, les coupures d'ADN double brin stabilisées par les quinolones constitueraient des lésions non réparables de l'ADN, capables de déclencher l'inactivation de certaines synthèses protéiques responsable de l'effet bactéricide de ces antibiotiques (**Drlica *et al.*, 2008**).

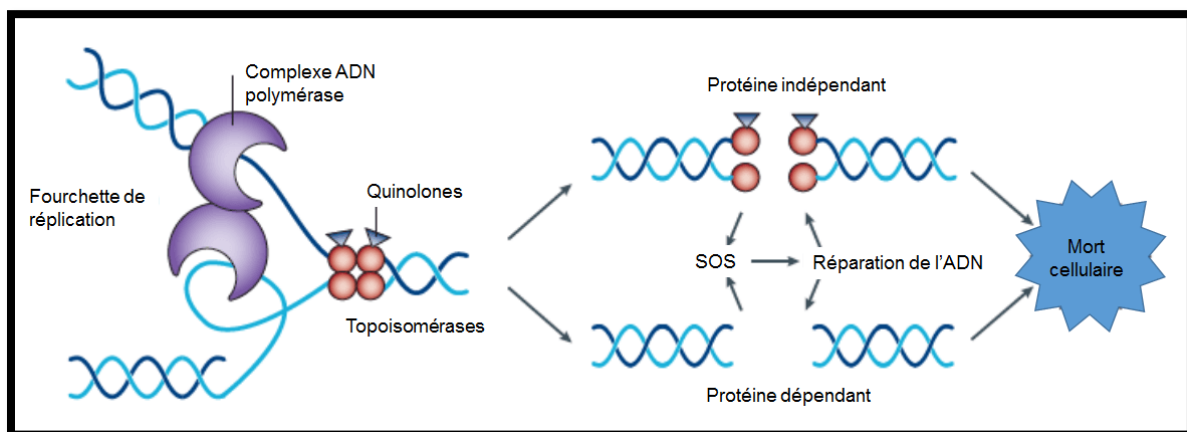


Figure 9: Mécanisme d'action des quinolones (**Kohanski *et al.*, 2010**).

II.2.2.4. Mécanismes de Résistance aux quinolones

Depuis leur mise sur le marché, l'incidence de la résistance aux quinolones ne cesse de croître chez les entérobactéries. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes chromosomiques et plasmidiques (**Cattoir et al., 2012**).

II.2.2.4.1. La résistance chromosomique

II.2.2.4.1.1. Modification de cible

La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries, résulte essentiellement des mutations ponctuelles au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, les sous unités A et B de l'ADN gyrase (GyrA et GyrB) et les sous-unités C et E de la topoisomérase IV (ParC et ParE) (**Drlica et Zhao, 1997**). Chez *E. coli*, ces mutations sont principalement localisées dans de courtes régions conservées, situées entre les acides aminés 67 et 106 du gène *gyrA* et les acides aminés 63 et 102 du gène *parC*, appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) (**Yoshida et al., 1990 ; Wohlkonig et al., 2010**). Une mutation simple du *gyrA* confère généralement un faible niveau de résistance aux fluoroquinolones. Une mutation supplémentaire de *gyrA* et/ou du *parC* est nécessaire afin d'obtenir un haut niveau de résistance (**Vila et al., 1994**).

II.2.2.4.1.2. La diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux

La résistance chromosomique aux quinolones peut également être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux (**Mitsuyama et al., 1992 ; Putman et al., 2000**). Chez *E. coli*, l'altération des protéines de la membrane externe (porines) comme OmpF et OmpC a déjà été observée. Ces porines sont nécessaires à la diffusion des quinolones dans le cytoplasme (**Chapman et Georgopapadokou, 1988**). De plus, des systèmes d'efflux, non spécifiques et constitutifs, sont exprimés par des bacilles à Gram négatif et prennent en charge les quinolones. En effet, Le système AcrAB-TolC, appartenant à la famille RND (Resistance-Nodulation cell Division), joue un rôle important dans l'efflux des quinolones chez *E. coli* (**Poole et al., 2005**). AcrB est la pompe, AcrA est la MFP (Membrane Fusion Protein) et TolC est une porine de la membrane externe (**Borges-Walmsley et al., 2003**). Des mutations survenant au niveau de différents éléments régulateurs modifient l'activité de cette pompe d'efflux (**Jacoby et al., 2005**).

Les mutations survenant dans le gène *acrR* (répresseur de *acrAB*) augmentent l'activité de la pompe (**Wang et al, 2001**), et inversement, les mutations inactivant *marR* (répresseur de *marA*) permettent à MarA d'activer *acrAB*, *tolC* et un gène diminuant la traduction de *ompF*, aboutissant à une diminution de l'influx et une augmentation de l'efflux des fluoroquinolones (**Cohen et al., 1989 ; Alekshun et Levy, 1997**). *E. coli* possède pas moins de vingt pompes à efflux responsables de résistances à de multiples antibiotiques dont les fluoroquinolones (**Nishino et Yamaguchi, 2001**).

II.2.2.4.2. La résistance plasmidique

Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique, jusqu'en 1998 où Martinez-Martinez et ses collaborateurs, ont décrit pour la première fois une souche de *Klebsiella pneumoniae* dont le support de la résistance aux quinolones est un plasmide transférable (PMQR, « Plasmid Mediated Quinolone Resistance ») (**Martinez Martinez et al., 1998**).

II.2.2.4.2.1. Les gènes *qnr*

Le déterminant génétique de cette résistance est le gène « *qnr* ». Les protéines Qnr s'intercalent entre les topoisomérases et les quinolones, bloquant ainsi leur activité (**Tran et Jacoby, 2002 ; Tran et al., 2005**). Depuis la résistance plasmidique aux quinolones a été rapportée, les gènes *qnr* ont été identifiés chez différentes espèces d'entérobactéries dans le monde entier et sont souvent associés à la production de β -lactamases à spectre étendu (**Guessennd et al., 2008**). Six déterminants Qnr (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD* et *qnrVC*) ainsi que différents variants des protéines QnrA (n=8), QnrB (n=88), QnrS (n=9), QnrD (2) et QnrVC (7) ont été identifiés (**Yanat et al., 2016**). Chez *E. coli*, les variants QnrA, QnrB, QnrS et QnrD ont été décrit à travers le monde (**Armas-Freire et al., 2015 ; Harifiet et al., 2015 ; Yanat et al., 2016 ; Liu et al., 2016 ; Moremi et al., 2016**). Les protéines Qnr confèrent une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones, mais elles peuvent faciliter la sélection des souches avec un niveau de résistance plus élevé, notamment lorsque elles sont associées à des mutations des topoisomérases (**Rodriguez-Martinez et al., 2007**).

II.2.2.4.2.2. le gène *aac(6')-Ib-cr*

Un autre mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones a été décrit chez des souches d'*E. coli* isolées en Chine. Il s'agit d'une inactivation de ces antibiotiques par acétylation. Le déterminant de cette résistance est le gène *aac(6')-Ib-cr* (**Robicsek et al., 2006**), variant du gène *aac(6')-Ib* qui code pour une aminoside N-acétyltransférase, responsable d'une résistance à la kanamycine, la tobramycine et l'amikacine (**Park et al., 2006**). Deux substitutions en positions 102 (Trp → Arg) et 179 (Asp → Tyr) de la protéine AAC(6')-Ib élargissent le spectre d'activité de la nouvelle enzyme, AAC(6')-Ib-cr, qui confère également une résistance de bas niveau à la ciprofloxacine et la norfloxacine (**Robicsek et al., 2006**). Le gène *aac(6')-Ib-cr* est généralement identifié comme gène cassette au sein d'intégron de classe 1 (**Mérens et Servonet, 2010**). Il est souvent associé à d'autres gènes de résistance aux quinolones tels les différents variants *qnr* et aux β -lactamines (**Strahilevitz et al., 2009**).

II.2.2.4.2.3. Le gènes *qepA*

qepA a été décrit pour la première fois, en 2007, chez deux souches cliniques d'*E. coli* isolées au Japon et en Belgique (**Yamane et al., 2007b ; Perichon et al., 2007**). A ce jour, trois variants ont été identifiés : *qepA1*, *qepA2* et *qepA3* (**Cattoir et al., 2008 ; Wang et al., 2015**), codant une pompe d'efflux appartenant à la famille MFS (Major Facilitator Superfamily), qui confère une résistance aux quinolones hydrophiles (norfloxacine et ciprofloxacine) et induit une augmentation de leur CMI d'un facteur de 8 à 32 sans avoir d'effet significatif sur les autres quinolones (**Yamane et al., 2007b ; Perichon et al., 2007**). La prévalence des souches cliniques ayant la pompe d'efflux QepA est assez faible.

II.2.2.4.2.4. La pompe d'efflux OqxAB

La pompe d'efflux OqxAB a été découverte pour la première fois en 2004 chez une souche porcine d'*E. coli* (**Hansen et al., 2004**). Ce mécanisme de résistance est déterminé par deux gènes, *oqxA* et *oqxB*, codant un système d'efflux de la famille RND (**Norman et al., 2008**). Ce dernier confère une résistance à un antibiotique utilisé pour stimuler la croissance dans des élevages porcins, l'olaquinox, mais il induit aussi une résistance au chloramphénicol, à l'acide nalidixique, à la norfloxacine et à la ciprofloxacine (**Hansen et al., 2007**).

Matériel et méthodes

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

I.1. Souches étudiées

Cette étude a été réalisée sur 20 souches non redondantes d'*Escherichia coli* (une par patient) isolées à partir des urines de patients externes (non hospitalisés), au laboratoire central de l'hôpital Sidi Beloua de Tizi Ouzou.

Cette collection inclue les souches pour lesquelles les données des patients étaient disponibles. Les critères d'inclusion ont été: culture des urines positive, symptômes d'infections urinaires non compliquées (un ou plusieurs des symptômes suivants: fréquence et urgence de la miction, dysurie, douleur sus-pubienne, brûlures mictionnelles). Cette collection comprend des souches provenant de patients femelles (n=15) et mâles (n=5).

Les informations concernant les patients chez qui les souches ont été isolées sont indiquées dans le **tableau III**.

I.2. Milieux de culture

I.2.1. Milieux liquide

- Bouillon nutritif (BN)
- Bouillon cœur cerveau (BHIB)
- Bouillon (LB : Luria-Bertani)
- Eau physiologique

I.2.2. Milieux solide

- Gélose nutritive
- Gélose Mueller Hinton

I.3. Tests biochimiques

Galerie API 20 NE (Bio Mérieux)

I.4. Antibiotiques

I.4.1. En disque (Bio Rad)

Voir partie antibiogramme

I.4.2. En poudre

amoxicilline (AMX) et amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfotaxime (CTX), ciprofloxacine (CIP), tétracyclines : (TE) et sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT).

Tableau III: informations concernant les patients chez qui les souches ont été prélevées

Référence Laboratoire	Référence Hôpital	Age	Sexe	Signes cliniques
E1	675	A	F	BM
E2	1	30	F	GROSSESE
E3	51	67	M	BM
E4	666	A	M	BM
E5	644	30	F	BM
E6	30	42	F	SUSPICION I4
E7	645	30	F	GROSSESE
E8	39	4	F	BM
E9	656	40	M	BM
E10	870	20	F	/
E11	188	A	F	/
E12	59	28	F	/
E13	862	80	M	/
E14	602	32	F	/
E15	13	A	F	/
E16	204	13	F	/
E17	58	86	M	/
E18	442	24	F	GROSSESE
E19	574	A	F	GROSSESE
E20	580	A	F	GROSSESE

E : souche d'*E. coli* ; **A** : âge adulte ; **F** : sexe féminin ; **M** : sexe masculin ; **BM** : brûlure mictionnelle.

II. Méthodes

II.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués par des écouvillons, puis, acheminés au laboratoire, et mis dans un bouillon nutritif et incubés à 37°C pendant 24 h.

II.2. Identification bactérienne

II.2.1. Principe:

L'identification a été faite par la galerie rapide API système (Analytical profil index). API 20^E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatifs non fastidieux, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La galerie API 20^E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée, les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux (**Figure 10, Tableau IV**). Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique.

II.2.2. Technique:

On réunie fond et couvercle d'une boîte d'incubation avec la répartition environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, sans oublier d'inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. En effet, on retire la galerie de son emballage individuel et on la dépose dans la boîte d'incubation, puis on prépare l'inoculum bactérien: une colonie dans 5ml d'eau physiologique, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland. Pour inoculer la galerie, il faut remplir à l'aide d'une pipette Pasteur les tubes et les cupules des tests CIT, VP et GEL avec la suspension bactérienne, et pour les autres tests; on va remplir uniquement les tubes (et non les cupules) avec la création d'une anaérobiose dans les tests: ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule par l'huile de vaseline stérile. Enfin, on incube à 37 C° ± 1C° pendant 18-24 heures.

II.2.3. Lecture:

La lecture des galeries API 20^E se fait selon les indications du fournisseur. Après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique où l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation.

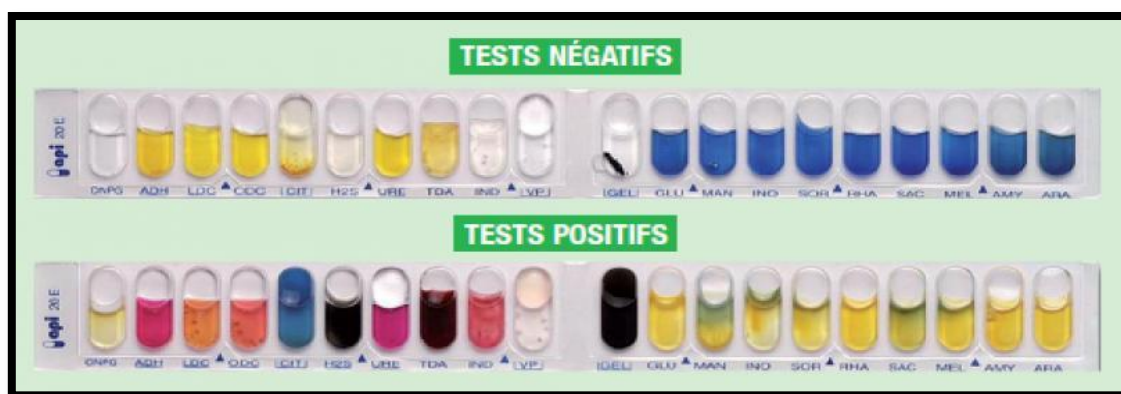


Figure 10: système de galerie biochimique Api 20^E

Tableau IV: indications pour l'interprétation des tests biochimiques d'une galerie API 20^E

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
NO ₃	Potassium nitrate	réduction des nitrates en nitrites	NIT1 + NIT2/5min	
			incolore	rose
		réduction des nitrates en azote	Zn / 5mn	
			rose	incolore
TRP	L-tryptophane	formation d'indole	James/ immédiate	
			Incolore/vert pale/jaune	rose
GLU	D-Glucose	fermentation	bleu vert	jaune
ADH	L-arginine	arginine dihydrolase	jaune	orange/rose/rouge
URE	urée	uréase	jaune	orange/rose/rouge
ESC	esculine citrate de fer	Hydrolyse (β-glucosidase)	jaune	Gris/marron/noir
GEL	gélatine (origine bovin)	Hydrolyse (protéase)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophénol-βD-galactopyranoside	β-galactosidase	incolore	jaune
GLU	D-glucose	assimilation	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	assimilation	transparence	trouble
MNE	D-mannose	assimilation	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	assimilation	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	assimilation	transparence	trouble
MAL	D-maltose	assimilation	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	assimilation	transparence	trouble
CAP	acide caprique	assimilation	transparence	trouble
ADI	acide adipique	assimilation	transparence	trouble
MLT	acide malique	assimilation	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	assimilation	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	assimilation	transparence	trouble

II.3. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

II.3.1. Méthode de dilution en milieu solide

La méthode de dilution en milieu solide consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose, maintenue liquide à 42°C. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique variable. Une suspension bactérienne de 10^8 cellules/ml est préparée dans 5 ml du bouillon LB. Cette dernière est ensuite ensemencée en spot de 2 μ l sur une gélose MH additionnée de l'antibiotique à tester (gamme de concentrations croissante à raison géométrique 2).

La sensibilité des souches à l'amoxicilline (AMX) et amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfotaxime (CTX), ciprofloxacine (CIP), tétracyclines : (TE) et sulfamethoxazole/triméthoprim (SXT) a été étudiée par la méthode de dilution des antibiotiques, en milieu gélifié, en utilisant deux concentrations. La première correspond à la plus petite concentration définissant le profil « résistant » selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2014) et la deuxième correspond au double de la première.

II.3.2. Antibiogramme « méthode de diffusion sur milieu solide »

La sensibilité des souches aux 26 molécules antibiotiques a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélifié (Courvalin *et al.*, 1985 ; CA-SFM, 2014).

14 molécules non bêta-lactames ont été testées, elles appartiennent aux familles des quinolones/fluoroquinolones (Na : acide nalidixique, CIP : ciprofloxacine, PEF : pefloxacine, OFX : ofloxacine), tétracyclines (TE : tétracycline), aminosides (K : kanamycine, NET : netilmycine, GM : gentamycine, AN : amikacine), sulfamides/diaminopyrimidines et associations (SSS : sulfamides, TMP : triméthoprim, SXT : sulfamethoxazole/triméthoprim), polypeptides (CST : colistine) et autre (FOS : fosfomycine).

Concernant les bêta-lactamines, 12 molécules ont été testées : amoxicilline (AMX) et amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfalotine (CF), cefoxitine (FOX), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO), céftazidime (CAZ), céfépime (FEP), cefpirome (CPO), aztréonam (ATM), imipénème (IPM) et ertapénème (ETP) (Tableau V).

II.3.2.1. Technique:

A partir d'une culture de 18h, la suspension est calibrée pour avoir un inoculum de 10^8 UFC/ml, correspondant à une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, soit une densité égale à 0,5 Mc Farland. On réalise une dilution de 10^{-1} , et on ensemence par

écouvillonnage les boîtes de gélose Mueller Hinton. On dépose les disques d'antibiotiques à tester à l'aide d'un distributeur ou par une pince et on incube pendant 24 heures à 37°C.

II.3.2.2. Lecture:

La lecture a été faite par la mesure avec précision des différents diamètres des zones d'inhibition, en comparons ces résultats aux valeurs critiques (**Tableau VI**). Les souches ont été classées dans l'une des catégories: Sensible, Intermédiaire ou Résistant.

II.3.3. Détermination des CMI en milieu solide

La méthode de dilution des antibiotiques en milieu solide (**CA-SFM, 2014**) a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des bêta-lactamines des 3^{ème} et 4^{ème} générations pour les souches de phénotypes BLSE. Pour cela, une suspension bactérienne de 10⁷ cellules/ml est préparée dans 5 ml du bouillon LB. Cette dernière est ensuite ensemencée en spot de 2 µl sur une gélose MH additionnée de l'antibiotique à tester (gamme de concentrations croissante à raison géométrique 2).

Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C. La CMI correspond à la concentration la plus faible en antibiotique où aucune croissance bactérienne n'est observée.

II.3.4. Détection des bêta-lactamases à spectre élargi « BLSE »

Le phénotype BLSE a été mis en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération selon la méthode DDS « double disk synergy » (**Jarlier *et al.*, 1988; Vedel *et al.*, 1994**).

II.3.4.1. Principe du test de synergie

Le teste de synergie permet la détection de β-lactamases à spectre étendue chez une souche donnée. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode des disques, qui consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de B-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftazidime et céfepime) et l'aztréonam.

II.3.4.2. Technique:

La recherche de β-lactamase à spectre étendue est fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis en disposant les disques d'ATB: un disque d'Amoxicilline + acide clavulanique (AMC) et les disques de C3G (CTX, FEP, CAZ) et l'aztréonam (ATM) à une

distance de 20 à 30 mm sur la gélose MHensemencée par écouvillonnage. Incubation pendant 18 heures à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

II.3.4.3. Lecture:

L'augmentation de la zone d'inhibition est due à une synergie entre l'acide clavulanique et les antibiotiques indicateurs, cette synergie se traduit par des images caractéristiques en forme de bouchon de champagne, de bâtonnets, d'entonnoir,...etc. Les résultats de l'antibiogramme et des tests de sensibilité aux antibiotiques sont validés en utilisant la souche de référence *E. coli* ATCC-25922 sensible aux antibiotiques.

Tableau V: Liste d'antibiotiques en disques utilisés pour l'antibiogramme (CA-SFM. 2014)

Familles/groupes d'antibiotiques	Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque
Amino-pénicillines et associations	amoxiciline	AMX	25 µg
	amoxiciline + acide clavulanique	AMC	20/10 µg
Céphalosporines	céfalotine	CF	30 µg
	céfoxitine	FOX	30 µg
	céfotaxime	CTX	30 µg
	céftriaxone	CRO	30 µg
	céftazidime	CAZ	30 µg
	céfépime cefpirome	FEP CPO	30 µg 30 µg
Monobactames	aztréonam	ATM	30 µg
Carbapénèmes	imipénème	IPM	10 µg
	ertapénème	ETP	10 µg
Aminosides	gentamicine	GM	15 µg
	amikacine	AN	30 µg
	kanamycine	K	30 UI
	netilmicine	NET	30 µg
Quinolones/fluoroquinolones	acide nalidixique	NA	30 µg
	ciprofloxacine	CIP	5 µg
	ofloxacine	OFX	5 µg
	pefloxacine	PEF	5 µg
Tétracyclines	tétracycline	TE	30 UI
Sulfamides/diaminopyrimidines et associations	sulfamides	SSS	200 µg
	triméthoprim	TMP	5 µg
	sulfamethoxazole/triméthoprim	SXT	1,25-23,75 µg
Polypeptides	colistine	CS	50 µg
Divers	fosfomycine	FOS	50 µg

Tableau VI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (CA-SFM. 2014).

Familles d'Antibiotiques	Antibiotiques testés	Signes	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
				Sensible S	Résistante R	Sensible S	Résistante R
β-lactamines	Céfalotine	CF	30µg	≥ 18	<12	≤8	>32
	Amoxicilline	AMX	25µg	≥ 21	<16	≤4	>8
	Amoxicilline + Ac.clavulanique	AMC	20/10µg	≥ 21	<16	≤4/2	>8/2
	Ticarcilline	TIC	75µg	≥ 24	<22	≤8	>16
	Ticarcilline + Ac.clavulanique	TCC	75/10µg	≥ 24	<22	≤8/2	>16/2
	Pipéracilline	PIP	75µg	≥ 20	<16	≤8	>16
	Pipéracilline/tazo bactam	TPZ	75/10µg	≥ 21	<17	≤8/4	>16/4
	Ceftazidime+ Ac-clavulanique	CAZ-CV	30/10µg	≥26	<19	≤1	>8
	Aztréonam	ATM	30µg	≥ 27	<21	≤ 1	>8
	Céfotaxime	CTX	30µg	≥26	<23	≤1	>2
	Ceftazidime	CAZ	30µg	≥26	<19	≤1	>8
	Céfépime	FEP	30µg	≥24	<17	≤1	>8
	Céfpirome	CPO	30µg	≥24	<17	≤1	>8
	Céfixime	CFM	30µg	≥ 25	<22	≤ 1	>2
	Céfuroxime	CXM	30µg	≥22	<22	≤8	>8
	Céfoxitine	FOX	30µg	≥22	<15	≤8	>32
	Imipénème	IPM	10µg	≥ 24	<17	≤ 2	>8
Aminosides	Kanamycine	K	30µg	≥17	<15	≤8	>16
	Tobramycine	TM	10µg	≥18	<16	≤2	>4
	Amikacine	AN	30µg	≥17	<15	≤8	>16
	Gentamicine	GM	15µg	≥18	<16	≤2	>4

Tableau VI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les entérobactéries (suite) (CA-SFM. 2014).

Familles d'Antibiotiques	Antibiotiques testés	Signes	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
				Sensible S	Résistante R	Sensible S	Résistante R
	Nétilmicine	NET	30µg	≥21	<19	≤2	>4
Quinolones – Fluoroquinolones	Ofloxacin	OFX	5µg	≥25	<22	≤0.5	>1
	Ciprofloxacine	CIP	5µg	≥25	<22	≤0.5	>1
	Ac.nalidixique	NA	30µg	≥20	<15	≤8	>16
Sulfamides-Triméthoprimes	Sulfamides	I	200µg	≥17	<12	≤64	>256
	Triméthoprine	TMP	5µg	≥20	<16	≤2	>4
	Triméthoprine/Sulfamethoxazole	SXT	1,25/23,75 µg	≥16	<13	≤2/38	>4/76
Divers	Chloramphénicol	C	30µg	≥23	<23	≤8	>8
	Tétracycline	TE	30µg	≥19	<17	≤4	>8
	Colistine	CS	50µg	≥15	<15	≤2	>2
	Fosfomycine	FOS	50µg	≥14	<14	≤32	>32

Résultats

RESULTATS

Notre étude a porté sur 20 souches d'*Escherichia coli* isolées chez des patients ayant des infections urinaires communautaires. L'objectif était de caractériser sur le plan phénotypique la résistance à différentes molécules antibiotiques (26 molécules) utilisées en thérapeutique.

I. Identification bactérienne

L'identification biochimique par le système de Galerie API 20^E a montré que toutes nos souches appartiennent à l'espèce *Escherichia coli*. Les profils biochimiques montrent une diversité de ces souches, soient 6 biotypes différents : 4144512, 5044512, 5044552, 5044572, 5144552 et 5144572 (Tableau VII).

Tableau VII: Résultats de l'identification bactérienne par le système de galerie API20^E

Référence Laboratoire	Référence Hôpital	Biotype	% ID	Remarque	Espèce
E1	675	5144572	99.6 %	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E2	1	5144552	99.9 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E3	51	5144572	99.6 %	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E4	666	5044572	99.9 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E5	644	5144552	99.9 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E6	30	4144512	69.6 % 30.2%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1 <i>Escherichia coli</i> 2
E7	645	5144552	99.9 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E8	39	5044572	99.9 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E9	656	5044512	85.6 % 14.4%	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1 <i>Escherichia coli</i> 2
E10	870	5144572	99.6%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E11	188	5144572	99.6%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E12	59	5144572	99.6%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E13	862	5044552	99.8%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E14	602	5044572	99.9%	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E15	13	5144572	99.6%	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E16	204	5044572	99.9%	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E17	58	5144552	99.9%	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1
E18	442	5044552	99.8 %	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1
E19	574	5044552	91.1 % 8.9 %	T. BONNE	<i>Escherichia coli</i> 1 <i>Escherichia coli</i> 2
E20	580	5044512	85.6 %	EXCELLENTE	<i>Escherichia coli</i> 1 <i>Escherichia coli</i> 2

II. Sensibilité des souches aux antibiotiques

II.1. Sensibilité des souches aux bêta-lactamines

II.1.1. Phénotypes de résistance

La sensibilité des souches à 12 bêta-lactamines : amoxicilline (AMX) et amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfalotine (CF), cefoxitine (FOX), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO), céftazidime (CAZ), céfépime (FEP), cefpirome (CPO), aztréonam (ATM), imipénème (IPM) et ertapénème (ETP) a été étudiée par la méthode de dilution des antibiotiques, en milieu gélosé, en utilisant deux concentrations. La première correspond à la plus petite concentration définissant le profil «résistant » et la deuxième correspond au double de la première ; et de diffusion des antibiotiques, en milieu gélosé (antibiogramme).

Les résultats obtenus sont indiqués dans le **Tableau VIII**. Leur analyse a montré :

- 2 souches sensibles aux bêta-lactamines (E1 et E2). Ce profil correspond au phénotype sensible naturel d'*E. coli* en dépit de la présence d'un gène de céphalosporinase sur son chromosome. Cette sensibilité s'explique par l'expression à un niveau très bas de ce gène.
- 18 souches résistantes à l'amoxicilline. Ce profil de résistance correspondrait au phénotype **Céphalosporinase** ou encore **Pénicillinase haut niveau** par hyperproduction de pénicillinase TEM-1 ou SHV-1. Ces dernières sont normalement sensibles à l'acide clavulanique mais leur inhibition dépend du taux de leur expression.
- Parmi les 18 souches résistantes à l'AMX, 6 souches présentent une résistance élargie aux C3G «céphalosporine de 3^{ème} génération » (céfotaxime, céftazidime). Ce profil correspondrait au phénotype **Bêta-lactamases à spectre élargi** (BLSE) ou **Céphalosporinase haut Niveau**. Il faut confirmer leur résistance à FOX.

Tableau VIII: Résultats de la sensibilité des 20 souches d'*E. coli* aux bêta-lactamines

Souches	Amino-pénicilline et association				Céphalosporines de 1 ^{ère} génération		Céphalosporines de 3 ^{ème} génération			
	AMX		AMC		CZ		CTX		CAZ	
	8 µg/ml	16 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml
E1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E3	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E4	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E5	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E6	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E7	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E8	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E9	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E10	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E11	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E12	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E13	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E14	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
E15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E16	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
E17	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
E18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E20	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
K12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
n	18	18	4	4	18	18	6	6	5	5

AMX: Amoxicilline, AMC: Amoxicilline + acide clavulanique, CZ: Céfazoline,
CAZ: Céftazidime, CTX: Céfotaxime, n : nombre de résistance. + : résistant, - : sensible.
En gris : souches testées pour activités BLSE.

II.1.2. Production de bêta-lactamases à spectre élargi

L'antibiogramme a été réalisé sur les 6 souches ayant présenté une résistance élargie aux C3G. Nous avons utilisé 8 molécules bêta-lactames représentées par 3 C3G (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime), 2 C4G « céphalosporines de 4^{ème} génération » (cefpirome et cefepime), un monobactame (aztréonam), une C2G «céphalosporine de 2^{ème} génération » (céfoxitine) et un carbapénème (imipénème). La disposition des disques de C3G, C4G et ATM (antibiotiques marqueurs) à 3cm centre à centre du disque contenant l'acide clavulanique permet de détecter la production de BLSE ; cette dernière se manifeste par la présence d'images de synergie entre l'acide clavulanique, inhibiteur des BLSE et des antibiotiques marqueurs.

Les résultats indiqués dans les **tableaux IX, X et XI** ont montré :

- Les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec l'amoxicilline (AMX) et la céfazoline (CZ) (18 souches résistantes). Ils ont été suivis par le céfotaxime (CTX) et la ceftriaxone (CRO) (6 souches résistantes). Viennent en troisième position la céftazidime (CAZ) et l'aztréonam (ATM) (5 souches résistantes). En quatrième position vient l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) (4 souches résistantes). En dernière position viennent le céfépime (FEP), le cefpirome (CPO) et la céfoxitine (FOX) (2 souches résistantes).
- La sensibilité de 4 souches à la céfoxitine avec des images de synergie caractéristiques de l'activité BLSE (E16, E17, E18, E20) (**Figure 11**). Ces souches ont été résistantes à toutes les C3G et C4G et à l'ATM sauf 1 (E20) qui a été résistante à CTX et CRO seulement. Ce profil correspond au phénotype BLSE;
- La résistance des 2 souches restantes à la céfoxitine (E15, E19) à toutes les C3G et à l'ATM mais pas aux C4G avec absence des images de synergie caractéristiques de l'activité BLSE. Ce profil est caractéristique du phénotype Céphalosporinase haut niveau.

Le tableau XI résume les profils de résistance aux bêta-lactamines de nos souches et leurs phénotypes de résistance.

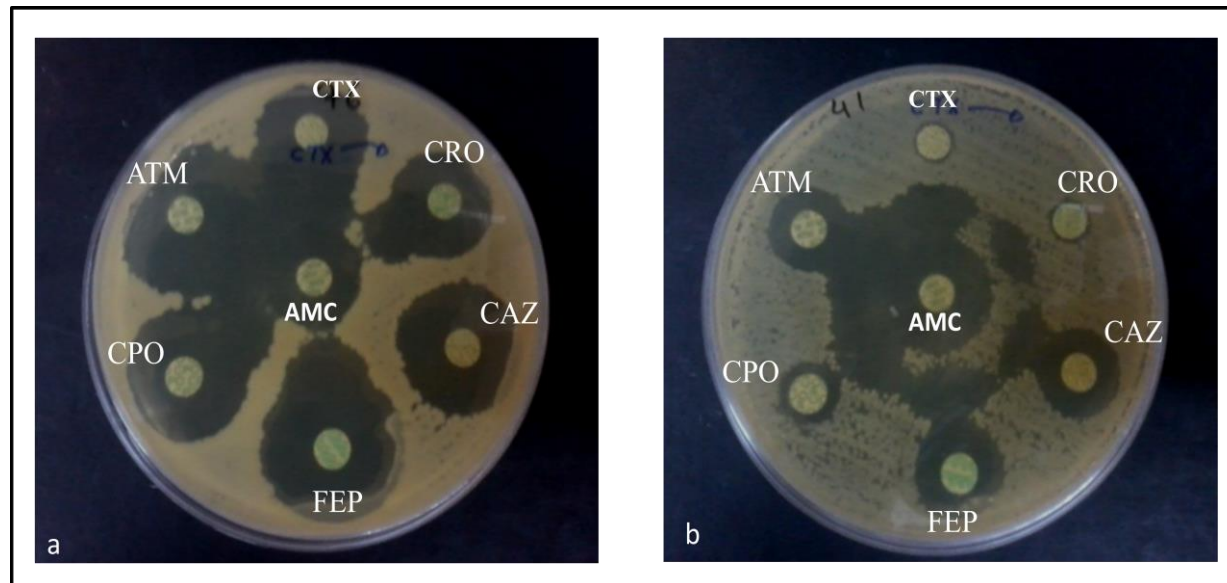


Figure 11: Production de β -lactamases à spectre élargi chez 2 souches d'*E.coli* (test DDS).

- (a) image de synergie en forme de bouchon de champagne avec l'AMC.
- (b) Image de synergie en forme de bâtonnet avec l'AMC.

Tableau IX: Résultats de la sensibilité des 6 souches à profil de résistance élargie aux C3G (méthode de diffusion en milieu gélosé).

Antibiotique charge du disque	CTX 30 µg	CRO 30 µg	CAZ 30 µg	FEP 30 µg	CPO 30 µg	ATM 30 µg	AMC 20/10 µg	FOX 30 µg	IPM 10 µg
Diamètre critique (mm)	≥ 26 S < 23 R	≥ 26 < 23	≥ 21 < 19	≥ 21 < 19	≥ 21 < 19	≥ 23 < 21	≥ 23 < 16	≥ 22 < 15	≥ 24 < 17
Souches									
Diamètre des zones d'inhibition (mm)									
Profil de résistance									
E15	17 R	21 R	16 R	26 S	26 S	14 R	9 R	0 R	30 S
E16	0 R	0 R	15 R	16 R	11 R	15 R	18 I	30 S	32 S
E17	9 R	8 R	17 R	18 R	13 R	17 R	18 I	28 S	34 S
E18	10 R	8 R	17 R	17 R	12 R	16 R	12 R	28 S	35 S
E19	18 R	22 R	16 R	28 S	28 S	17 R	9 R	0 R	32 S
E20	22 R	21 R	23 S	26 S	23 S	29 S	12 R	30 S	34 S
K12	33 S	30 S	25 S	30 S	33 S	0 R	30 S	33 S	36 S

CTX: céfotaxime, CRO: ceftriaxone, CAZ: ceftazidime, FEP: cefepime, CPO: ceftiofime, ATM: aztréonam, FOX: céfoxitine, AMC: Amoxicilline + acide clavulanique, IPM imipénème. S : sensible, R : résistant, I : intermédiaire

Tableau X : Résultats du test de synergie chez les 6 souches à profil de résistance élargi aux C3G

Béta-lactamines indicatrices de l'activité BLSE							Interprétation du test
Souches	CTX	CRO	CAZ	FEP	CPO	ATM	
E15	-	-	-	-	-	-	DDS-
E16	+	-	+	+	+	+	DDS+
E17	+	+	+	+	+	+	DDS+
E18	+	+	+	+	+	+	DDS+
E19	-	-	-	-	-	-	DDS-
E20	+	+	+	+	+	+	DDS+
<i>E. coli</i> BM21	-	-	-	-	-	-	DDS-

CTX: céfotaxime, CRO: ceftriaxone, CAZ: ceftazidime, FEP: cefepime, CPO: ceftiofime, ATM: aztréonam, (+) : présence d'image de synergie ; (-) : absence d'image de synergie ; DDS- : test de synergie négatif ; DDS+ : test de synergie positif.

Tableau XI : Profils de résistance aux bêta-lactamines et phénotypes de résistance suspectés

Profils de résistance (n)	Souches	Phénotype de résistance
Sensible (2)	E1, E2,	Sensible
AMX- CZ (12)	E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14	- Pénicillines haut niveau - Céphalosporinase
AMX-AMC-CZ-CTX-CRO (1)	E20	BLSE
AMX-AMC-CZ-CTX-CRO-CAZ-ATM (1)	E18	
AMX-CZ-CTX-CRO-CAZ-FEP-CPO-ATM (2)	E16, E17	
AMX-AMC-CZ-FOX-CTX-CRO-CAZ-ATM (2)	E15, E19	Céphalosporinases Haut niveau

AMX: Amoxicilline, **AMC:** Amoxicilline + acide clavulanique, **CZ:** Céfazoline, **CAZ:** Céftazidime, **CTX:** Céfotaxime, **CRO:** ceftriaxone, **CPO:** cefpirome, **ATM:** aztréonam.

II.2. Sensibilité des souches aux non bêta-lactames

La sensibilité des souches aux non bêta-lactames a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. 14 molécules ont été testées, elles appartiennent aux familles des quinolones/fluoroquinolones (Na : acide nalidixique, CIP : ciprofloxacine, PEF : pefloxacine, OFX : ofloxacine), tétracyclines (TE : tétracycline), aminosides (K : kanamycine, NET : netilmycine, GM : gentamycine, AN : amikacine), sulfamides/diaminopyrimidines et associations (SSS : sulfamides, TMP : triméthoprim, SXT : sulfaméthoxasole), polypeptides (CST : colistine) et autre (FOS : fosfomycine).

Les résultats obtenus sont indiqués dans le **Tableau XIII**. Leur analyse a montré que les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec les sulfamides (SSS) (12 souches résistantes), ils ont été suivis par l'association sulfaméthoxasole-triméthoprim (SXT), la tétracycline (TE), la kanamycine (K) et l'acide nalidixique (NA) (7 souches résistantes). Viennent en troisième position le triméthoprim (TMP) (6 souches résistantes). En dernière position viennent la gentamycine (G), l'ofloxacine (OFX), la pefloxacine (PEF) et la ciprofloxacine (CIP) (4 souches résistantes). La netilmycine (NET), l'amikacine (AN), la colistine (CST) et fosfomycine (Fos) ont été actifs sur toutes les souches.

L'analyse du profil de sensibilité des 20 souches a montré 4 souches sensibles aux non bêta-lactames. Des résistances multiples ont été observées pour les sulfamides/diaminopyrimidines et associations (SSS-SXT-TMP), soit 6 souches résistantes aux trois molécules à la fois, et pour les quinolones/fluoroquinolones (Na-CIP-PEF-OFX), soit 4 souches résistantes aux 4 molécules à la fois (**Tableau XV**).

L'analyse du profil de sensibilité à l'ensemble des antibiotiques testés sur les 20 souches a montré 2 souches sensibles à tous les antibiotiques. Pour le reste des souches, 16 profils de résistance ont été mis en évidence, ils comprennent un nombre de résistance allant de 2 à 13 molécules, répartis sur 1 à 5 familles d'antibiotiques. Parmi ces souches résistantes, 10 ont été des MDR « Multi Drug Resistance » (résistants à au moins trois familles d'antibiotiques) (**Tableau XV**).

II.3. Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine

Sur les 20 souches d'*E. coli* étudiées, 16 ont été sensibles à la ciprofloxacine (CMI inférieures à 0.5µg/ml) et 4 ont été résistantes à la plus basse concentration déterminant le profil résistant. Les résultats des CMI de la CIP sont indiqués dans le **tableau XIV**; ils ont montré des CMI de 128 µg/ml (n=1), 64 µg/ml (n=2), 32 µg/ml (n=1).

Tableau XIV: CMI de la ciprofloxacine chez les souches d'*E. coli* résistantes

Conc. [µg/ml]	[0.5]	[1]	[2]	[4]	[8]	[16]	[32]	[64]	[128]	CMI (µg/ml)
Souches										
E4	+	+	+	+	+	+	+	-	-	64
E8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	128
E11	+	+	+	+	+	+	+	-	-	64
E13	+	+	+	+	+	+	-	-	-	32
K12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< 0.5

(+) : croissance; (-) : absence de croissance ; **Conc.:** concentration

Tableau XIII: Résultats de la sensibilité des souches aux molécules non bêta-lactames (méthode de diffusion en milieu gélosé)

	Béta-lactamines	Quinolones/ fluoroquinolones				TE	Aminosides				Sulfamides/ diaminopyrimidines et associations			Polypéptides	Divers
	AMX 20/10 µg	NA 30 µg	CIP 5 µg	PEF 5 µg	OFX 5 µg	TE 30 µg	K 30 µg	NET 30 µg	GM 10 µg	AN 30 µg	SSS 200 µg	TMP 5 µg	SXT 1.25/23.75 µg	CST 50 µg	Fos 50 µg + 50 µg G6P
Diamètre critique (mm)	≥ 23 S < 16 R	≥ 20 S < 15 R	≥ 25 < 22	≥ 22 < 16	≥ 25 < 22	≥ 19 < 17	≥ 17 < 15	≥ 21 < 19	≥ 18 < 16	≥ 17 < 15	≥ 17 < 12	≥ 16 < 12	≥ 16 < 10	≥ 15 < 15	≥ 14 < 14
souches															
E1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E3	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
E5	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
E6	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
E7	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S
E8	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
E9	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E10	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
E11	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
E12	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E13	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
E14	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S
E15	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S		S	S
E16	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S		S	S
E17	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S		S	S
E18	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
E19	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
E20	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
K12	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Taux (n)	18	7	4	4	4	7	7	0	4	0	12	6	7	0	0

Na: acide nalidixique, CIP: ciprofloxacine, PEF : pefloxacine, OFX: ofloxacine, TE: tétracycline, K: kanamycine, NET: netilmycine, GM: gentamycine, AN: amikacine, SSS: sulfamides, TMP: triméthoprim, SXT: sulfamethoxazole, n : nombre de résistance.

Tableau XV: Profils de résistance aux antibiotiques chez 20 souches d'*E.coli*

Nombre de résistance (nombre de souches)	Nombre de familles	Profil de résistance	Souches
0 (2)	0	-	E1, E2
2 (2)	1	AMX-CZ	E3, E9
3 (2)	2	AMX-CZ/SSS	E6
	2	AMX-CZ/TE	E12
4 (2)	2	AMX-CZ/SSS-SXT	E10
	3	AMX-CZ/K/SSS	E5
5 (1)	4	AMX-CZ/TE/K/SSS	E7
6 (1)	3	AMX-CZ/TE/SSS-TMP-SXT	E14
7 (1)	3	AMX-CZ/NA-CIP-PEF-OFX/SSS	E8
8 (1)	4	AMX-CZ/NA-CIP-PEF-OFX/GM/SSS	E11
9 (3)	2	AMX-CZ-AMC-FOX-CTX-CRO-CAZ-ATM/TE	E15
	2	AMX-CZ-CTX-CRO-CAZ-FEP-CPO-ATM/TE	E16*
	2	AMX-CZ-CTX-CRO-CAZ-FEP-CPO-ATM/GM	E17*
11 (3)	4	AMX-CZ-AMC-CTX-CRO/NA/K-GM/SSS-TMP-SXT	E20*
	5	AMX-CZ/NA-CIP-PEF-OFX/TE/K/SSS-TMP-SXT	E4, E13
13 (2)	4	AMX-CZ-AMC-FOX-CTX-CRO-CAZ-ATM/NA/K/SSS-TMP-SXT	E19
	4	AMX-CZ-AMC-CTX-CRO-CAZ-ATM/NA/K-GM/SSS-TMP-SXT	E18*

AMX: Amoxicilline, **AMC:** Amoxicilline + acide clavulanique, **CZ:** Céfazoline, **CAZ:** Céftazidime, **CTX:** Céfotaxime, **Na:** acide nalidixique, **CIP:** ciprofloxacine, **PEF :** pefloxacine, **OFX:** ofloxacine, **TE:** tétracycline, **K:** kanamycine, **NET:** netilmycine, **GM:** gentamycine, **AN:** amikacine, **SSS:** sulfamides, **TMP:** triméthoprime, **SXT:** sulfamethoxazole, **CRO:** ceftriaxone, **CPO:** ceftiofime, **ATM:** aztréonam, * :souche BLSE

Discussion

DISCUSSION

Ce travail a porté sur 20 souches non redondantes d'*Escherichia coli* issues d'ECBU présentant les critères d'infection urinaire. Les urines provenant de patients externes adultes ont été adressés au laboratoire central de l'hôpital Sidi Belloua de Tizi Ouzou par les consultations externes rattachées à l'hôpital. le sexe ratio F/H a été $15/5 = 3$, s'expliquant par le fait que les infections urinaires communautaires touchent principalement les femmes ; l'urètre court et la grossesse sont parmi les facteurs favorisant spécifiques.

➤ Sensibilité aux antibiotiques

Les souches ExPEC dont font partie les uropathogènes ont été récemment décrites comme jouant un rôle important dans la résistance aux antibiotiques (**Pitout et al. 2012**).

L'analyse de la sensibilité de nos souches aux antibiotiques a montré des résistances à la plupart des molécules testées avec des prévalences différentes.

Les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec l'amoxicilline (AMX) et la céfazoline (CZ) (18 souches résistantes), ils ont été suivis par les sulfamides (SSS) (12 souches résistantes). Viennent en troisième position l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (SXT), la tétracycline (TE), la kanamycine (K) et l'acide nalidixique (NA) (7 souches résistantes). En quatrième position viennent le triméthoprim (TMP), le céfotaxime (CTX) et le ceftriaxone (CRO) (6 souches résistantes). Viennent en cinquième position la céftazidime (CAZ) et l'aztréonam (ATM) (5 souches résistantes). En sixième position viennent l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC), la gentamycine (G), l'ofloxacine (OFX), la pefloxacine (PEF) et la ciprofloxacine (CIP) (4 souches résistantes). En dernière position viennent le céfépime (FEP), le ceftiofime (CPO) et la ceftiofime (FOX) (2 souches résistantes). La netilmycine (NET), l'amikacine (AN), la colistine (CST) et fosfomycine (Fos) ont été actifs sur toutes les souches.

• Aminopénicillines

L'augmentation de la résistance des souches d'*E. coli* urinaires communautaires aux aminopénicillines (ampicilline et amoxicilline) a été rapportée dans plusieurs régions dans le monde (**HO et al., 2010 ; Kashef et al., 2010 ; Lee et al., 2010 ; Muvunyi et al., 2011 ; Martinez et al., 2012**). Elle serait due à une large prescription de ces molécules en médecine

clinique limitant fortement leur intérêt en traitement empirique des infections urinaires communautaires.

- **Sulfamides et association**

La résistance aux sulfamides et association sulfamethoxasole-trimethoprim a été aussi élevée ; pour le sulfamethoxasole-trimethoprim qui figure parmi les traitements de choix dans les infections urinaires simples, la prévalence de la résistance dans le monde a dépassé les 20%, comme dans notre étude, seuil au-delà duquel cet antibiotique n'est plus recommandé en traitement empirique des infections urinaires communautaires (IUC) (**Gupta et al., 2011**). L'incidence élevée de souches résistantes au sulfamethoxasole-trimethoprim serait en relation avec leur large utilisation en médecine clinique ainsi que dans la production de volailles, ces dernières pouvant être un réservoir de souches ExPEC humaines, comme cela a été rapporté par **Zhao et al. (2009)**.

- **Fluoroquinolones**

Les fluoroquinolones sont devenues fréquemment prescrits pour le traitement des IUC mais leur utilisation empirique a vite conduit à l'émergence de souches qui en sont résistantes. Dans notre étude, la résistance aux fluoroquinolones a concerné un fort taux des souches, comme rapporté dans plusieurs pays (**Bours et al., 2010 ; Cuevas et al., 2010 ; Kashef et al., 2010 ; Lee et al., 2010 ; Martinez et al., 2012**). Face à l'augmentation de la résistance à ces molécules, les nouvelles recommandations pour le traitement des IUC visent à limiter la pression antibiotique exercée par ces antibiotiques en milieu communautaire et incitent à une plus grande utilisation de la fosfomycine dans les infections urinaires simples au détriment des fluoroquinolones (**AFSSAPS , 2008**).

Ben Haj Khalifa et Khedher (2010), Fabre et al. (2010) et Ho et al., (2010) ont montré que la fosfomycine est actif sur plus de 90% des isolats urinaires d'*E. coli*, indépendamment de leurs phénotypes de résistance à d'autres antibiotiques ; cette faible résistance serait due à leur prescription limitée contrairement aux autres antibiotiques comme les bêta-lactamines et les fluoroquinolones.

- **Tétracycline**

Le taux de résistance à la tétracycline a été alarmant. De façon similaire, **Martinez et al. (2012)** ont rapporté une prévalence de 60.8% et **Ho et al. (2010)** un taux de 53% chez *E. coli* à l'origine de cystites non compliquées chez la femme en Chine (Hong Kong) bien que cet antibiotique ne soit pas utilisé pour le traitement de ces infections. L'incidence élevée de la résistance à la tétracycline pourrait être due à sa large utilisation en médecine clinique ou à la diffusion de souches résistantes animales et de leurs gènes de résistance à l'homme. En effet, la tétracycline est un des antimicrobiens les plus largement utilisés en production animale. Son utilisation comme promoteur de croissance a vite conduit à l'émergence de souches qui en sont résistantes (**DuPont et Steele, 1987**). De très fortes prévalences de la résistance des souches d'*E. coli* vis-à-vis de la tétracycline ont été rapportées chez la plupart des espèces d'élevage (**Maynard et al., 2003 ; Boerlin et al., 2005; Gyles, 2008**).

- **Aminosides**

En raison de leur néphrotoxicité et ototoxicité, l'utilisation des aminosides en milieu extrahospitalier est réservée au traitement des infections urinaires hautes, en cas de contre-indication à l'utilisation d'une β -lactamine ou d'une fluoroquinolone (**AFSSAPS, 2011**). Ceci pourrait expliquer le faible taux de résistance à la Gentamycine observé chez nos souches.

- **BLSE**

Les taux de résistance très faibles observés avec les bêta-lactamines à large spectre, notamment les C3G, pourraient être liés à leur utilisation restreinte (en monothérapie ou bithérapie) dans les formes graves de certaines formes d'IUC comme les pyélonéphrites et les prostatites (**AFSSAPS, 2013**).

La présence de souches productrices de BLSE a été rare (4 souches) parmi nos souches. Des taux allant de 1.3% à 6.6% ont été rapportés par **Auer et al. (2010); Fabre et al. (2010), Lee et al. (2010) et Muvunyi et al. (2011)**. Parmi nos 4 souches BLSE+, 2 ont été des MDR (résistance à plus de trois familles d'antibiotiques). Ces résultats sont en accord avec les études rapportant que les souches d'entérobactéries productrices de BLSE, retrouvées principalement chez les patients ambulatoires et isolées des infections urinaires sont

résistantes aux quinolones, aminosides et sulfamides (**Perez *et al.*, 2007 ; Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010**). L'émergence de souches productrices de BLSE généralement résistantes aux autres familles d'antibiotiques alternatives aux bêta-lactamines constitue un vrai problème de santé publique puisqu'elle suscite l'utilisation des carbapénèmes, qui restent la seule alternative thérapeutique (**Grall *et al.*, 2011**).

- **Taux de résistance aux antibiotiques dans le monde**

La prévalence de la résistance aux antibiotiques chez *E. coli* à l'origine d'infections communautaires varie considérablement selon les pays, elle est très élevée dans ce travail comme c'est le cas dans les autres pays en développement comparée à celle des pays développés. En effet, dans une étude multicentrique en Europe (2007-2008) comprenant 5 pays y compris ceux où la prescription des antibiotiques est élevée (Grèce et Portugal), les taux de résistance rapportés ont été < 3% (gentamycine et C3G), de 2-8.9% (AMC), 0.5-7.6% (CIP), 21.2-34% (AM), 21.2-31.3% (SSS), 14.9-19.1% (TMP), 14.4-18.2% (SXT), 7-16% (Nal) (**Kahlmeter et Poulsen, 2012**). En Tunisie (en 2008), les taux de résistance rapportés pour AMX, GM et SXT ont été proches des notre (59.8%, 4.7% et 38.1%, respectivement) ; par contre, les taux de résistance aux quinolones et au céfotaxime ont été plus faibles, soient 8.3% (Na), 6.6% (OFX), 4.7% (CIP) et 1.7% (CTX), comparables à ceux rapportés en Europe (**Ferjani *et al.*, 2010**).

Dans le monde, les taux de résistance les plus élevés ont été ceux rapportés dans certains pays comme l'Inde, le Pakistan, l'Iran et le Rwanda en Afrique de l'Est et ce pour toutes les familles d'antibiotiques. Ces taux sont nettement supérieurs à ceux rapportés par notre étude (**Kashef *et al.*, 2010 ; Bashir *et al.*, 2011 ; Jadhav *et al.*, 2011 ; Muvunyi *et al.*, 2011**).

➤ Mécanismes de résistance aux antibiotiques suspectés

• Pour les bêta-lactamines

E. coli est naturellement sensible à l'ensemble des aminopénicillines et des céphalosporines. Le mécanisme essentiel de la résistance aux bêta-lactamines est de nature enzymatique par production de bêta-lactamases. La résistance élevée à l'amoxicilline pourrait être liée, chez nos souches, à la présence de gènes TEM et/ou SHV. Ces gènes coderaient pour des pénicillinases TEM-1 et SHV-1; ou à l'hyperproduction de la céphalosporinase AmpC chromosomique comme cela a été déjà rapporté (**Ortega et al., 2012**).

Chez *E. coli*, le principal mécanisme de résistance aux C3G est l'acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) d'origine plasmidique dégradant toutes les bêta-lactamines sauf les carbapénèmes (**Livermore, 2008**). Les entérobactéries productrices de BLSE ont émergé dans les années 1980 et ont longtemps été exclusivement d'acquisition nosocomiale (**Bradford, 2001**). Dans les années 2000, de nouvelles BLSE d'origine communautaire, appelées CTX-M en raison de leur hydrolyse préférentielle du céfotaxime ont été décrites (**Rossolini et al., 2008**). Chez *E. coli*, la résistance aux C3G peut être aussi due à l'hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique, liée à des mutations touchant le promoteur du gène *ampC* (**Caroff et al., 1999**). Notre étude a montré la résistance de 6 souches aux C3G. Cette résistance pourrait être liée à la présence de BLSE de type CTX-M15. Ce mécanisme de résistance aux C3G est le plus répandu parmi les souches d'*E. coli* BLSE en Algérie (**Messai et al., 2008 ; Yahiaoui et al., 2015**).

• Pour les non bêta-lactames

les sulfamides et le triméthoprim sont des antibiotiques qui agissent en synergie d'où leur utilisation en association (co-trimoxazole) depuis les années 60 dans le traitement des infections urinaires non compliquées, intestinales et respiratoires (**Huovinen, 2001**). Chez les entérobactéries y compris *E. coli*, la résistance aux sulfamides et au triméthoprim est fréquemment plasmidique, liée à l'acquisition de nouvelles enzymes cibles qui sont naturellement résistantes, les dihydroptéroate synthases pour les sulfamides et les dihydrofolates reductases pour le triméthoprim (**Sköld, 2001**). Ces enzymes sont codées par des gènes localisés sur plasmides. On en connaît trois gènes de résistance, *sul1*, *sul2* et *sul3*

pour les dihydroptéroate synthases et une trentaine de gènes *dfr* pour les dihydrofolates réductase (Sköld, 2001 ; Perreten et Boerlin, 2003).

La résistance acquise aux quinolones par modification de la cible est le mécanisme de résistance aux quinolones le plus fréquemment décrit (Mérens et Servonnet, 2010). Il résulte de mutations dans des régions particulières des topoisomérase II, dénommées QRDR (pour quinolone resistance determining region), qui constituent le site de fixation des quinolones. Une seule mutation dans la région QRDR conduit habituellement à une résistance de haut niveau aux quinolones de première génération chez les bactéries à Gram négatif. Par contre, elle ne confère qu'une résistance de bas niveau aux fluoroquinolones pouvant facilement évoluer vers une résistance de haut niveau sous la pression de sélection exercée par cette classe d'antibiotique (Kumar *et al.*, 2005 ; Chenia *et al.*, 2006 ; Mérens et Servonnet, 2010, Cattoir, 2012).

Conclusion

CONCLUSION

Escherichia coli est un commensal intestinal de l'homme et des animaux à sang chaud. C'est aussi un redoutable pathogène, à l'origine d'infections intestinales et extra-intestinales (ExPEC), il est la cause majeure des infections urinaires. Le pouvoir pathogène d'*E. coli* est lié à divers facteurs de virulence et à la résistance aux classes d'antibiotiques majeures en thérapeutique. L'objectif de cette étude a été l'évaluation de la résistance aux antibiotiques de 20 souches d'*E. coli* uropathogènes isolées chez des patients ambulatoires.

L'évaluation de la sensibilité des souches aux antibiotiques a montré une résistance à la plupart des molécules testées. Les taux de résistance les plus élevés ont été observés avec l'amoxicilline (AMX) et la céfazoline (CZ) (18 souches résistantes), ils ont été suivis par les sulfamides (SSS) (12 souches résistantes). Viennent en troisième position l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (SXT), la tétracycline (TE), la kanamycine (K) et l'acide nalidixique (NA) (7 souches résistantes). En quatrième position viennent le triméthoprim (TMP), le céfotaxime (CTX) et le ceftriaxone (CRO) (6 souches résistantes). Viennent en cinquième position la céftazidime (CAZ) et l'aztréonam (ATM) (5 souches résistantes). En sixième position viennent l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC), la gentamycine (G), l'ofloxacine (OFX), la pefloxacine (PEF) et la ciprofloxacine (CIP) (4 souches résistantes). En dernière position viennent le céfépime (FEP), le ceftiofime (CPT) et la ceftiofime (FOX) (2 souches résistantes). La netilmycine (NET), l'amikacine (AN), la colistine (CST) et fosfomycine (Fos) ont été actifs sur toutes les souches.

La majorité des souches avaient un phénotype MDR. La production de bêta-lactamases à spectre élargi a été détectée chez 4 souches. La présence de telles souches à la fois résistantes aux antibiotiques et virulentes peut compliquer la prise en charge des maladies infectieuses.

Cette étude a montré la présence en milieu communautaire de souches d'*E. coli* uropathogènes multirésistantes aux antibiotiques, avec, cependant, une rareté des BLSE. Ceci reflète une utilisation souvent systématique et non documentée des antibiotiques, notamment à large spectre, en milieu externe, avec tous les effets délétères sur la santé publique que cela implique.

Une réponse doit être apportée à ce problème par des recommandations de prescription basées sur des études régulières sur les niveaux et les types de résistance prévalents et sur la quantité et la qualité des molécules prescrites.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. 2008.** **Recommandations de bonne pratique.** Diagnostic et Antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte.
- **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. 2011.** Mise au point sur le bon usage des aminosides administrés par voie injectable : gentamicine, tobramycine, netilmicine, amikacine.
- **Ansart S., N. Xavier, Y.L. Pennec et G. Michel. 2005.** Quand - utiliser une fluoroquinolone systémique ? *Revue 29609 Brest Cedex.*
- **Armas-Freire P.I., G.Trueba, C. Proaño-Bolaños , K. Levy, L. Zhang et C.F. Marrs. 2015.** Unexpected distribution of the fluoroquinolone-resistance gene *qnrB* in *Escherichia coli* isolates from different human and poultry origins in Ecuador. *Int Microbiol.*, 18: 85-90.
- **Auer S., A. Wojna et M. Hell. 2010.** Oral treatment options for ambulatory patients with urinary tract infections caused by extended-spectrum- β -lactamase producing *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 54: 4006–4008.
- **Babic M., A.M. Hujer et R.A. Bonomo. 2006.** "What's new in antibiotic resistance? Focus on betalactamases." *Drug Resist Updat.*, 9(3): 142-56.
- **Barrial K. et J. Scotet. 2006.** Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie.*, 3-10.
- **Bashir S., Y. Sarwar, A. Ali, M. Mohsin, M.A. Saeed, A. Tariq et A. Haque. 2011.** Multiple drug resistance patterns in various phylogenetic groups of uropathogenic *E.coli* isolated from faisalabad region of Pakistan. *Braz. J. Microbiol.*, 42: 1278-1283.
- **Ben Haj Khalifa A. et M. Khedher. 2010.** Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogènes à l'hôpital universitaire Tahar Sfar de Mahdia. *Revue Tunisienne d'Infectiologie.*, 4: 57 – 61.
- **Boerlin P., R. Travis, C.L. Gyles, R. Reid-Smith, N. Janecko, H. Lim, V. Nicholson, S.A. McEwen, R. Friendship et M. Archambault. 2005.** Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71:6753-6761.
- **Borges-Walmsley M.I., K.S. McKeegan et A.R. Walmsle. 2003.** Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs. *J Biochem .*, 376: 313–38.
- **Bours P.H.A., R. Polak, A.I.M. Hoepelman, E. Delgado, A. Jarquin et A.J. Matute. 2010.** Increasing resistance in community-acquired urinary tract infections in Latin America, five years after the implementation of national therapeutic guidelines. *Int. J. Infect Dis.*, 14: 770–774.
- **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.
- **Caroff N., E. Espaze, I. Bérard, H. Richet et A. Reynaud. 1999.** Mutations in the *ampC* promoter of *Escherichia coli* isolates resistant to oxyiminocephalosporins without extended spectrum b-lactamase production. *FEMS. Microb. Lett.*, 173: 459–65.

- **Cattoir V. 2012.** Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Rev Francoph Lab.*, 445: 79-87.
- **Cattoir V., P. Nordmann, J. Silva-Sanchez, P. Espinal et L. Poirel. 2008.** ISEcp1-mediated transposition of *qnrB*-like gene in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52: 2929-2932.
- **Cavallo J.D., R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp et E. Garrabé. 2004.** Bêtalactamines. *EMC Maladies infectieuses.*, 1 : 129-202.
- **Chaabane A., K. Aouama, N.A. Boughattas et M. Chakroun. 2009.** Allergie aux bêtalactamines: mythe et réélités. Ed Elsevier Masson. *Médecine et maladies infectieuses.*, 39 :278-287.
- **Chapman J.S. et N.H. Georgopapadokou 1988.** Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 32: 438–42.
- **Chenia H.Y., B. Pillay, D. Pillay. 2006.** Analysis of the mechanisms of fluoroquinolone resistance in urinary tract pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.*, 58:1274-1278.
- **Comte D., S. Petitpierre, P.A. Bart et F. Spertini. 2012.** Allergie aux β -lactamines. *Rev Med Suisse.*, 8: 836-842.
- **Courvalin . 2012a.** Antibiogramme.
- **Courvalin L. 2012b.** Antibiogramme. In: (ed. by ESKA E).
- **Courvalin P., F. Goldstein, A. Philippon et J. Sirot. 1985.** L'antibiogramme. Ed. MPC-Vigot, Paris-Bruxelles.
- **Cuevas O., E. Cercenado, M. Gimeno, M. Marin, P. Coronel, E. Bouza et Spanish Urinary Tract Infection Study Group (SUTIS). 2010.** Comparative in vitro activity of cefditoren and other antimicrobials against Enterobacteriaceae causing community-acquired uncomplicated urinary tract infections in women: a Spanish nationwide multicenter study. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 67: 251–260.
- **Drlica K. et X. Zhao. 1997.** DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 61: 377-92.
- **Drlica K., M. Malik, R.J. Kerns et X. Zhao. 2008.** Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob Agents Chemother.*, 52: 385-92.
- **DuPont H.L. et J.H. Steele. 1987.** The human health implication of the use of antimicrobial agents in animal feeds. *Vet. Q.*, 9: 309–320.
- **Fabre R., A. Mérens, F. Lefebvre, G. Epifanoff, F. Cerutti, H. Pupin, D. Tardif, J.D. Cavallo et I. Ternois. 2010.** Susceptibility to antibiotics of *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections. *Med. Maladies Infect.*, 40: 555–559.
- **Fabrega A., S. Madurga, E. Giralt et J. Vila. 2009.** Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microb Biotechnol.*, 2: 40-61.
- **Ferech M. et S. Coenen. 2006.** "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe." *J Antimicrob Chemother.*, 58(2): 401-407.
- **Ferjani A., M. Marzouk, F. Ben Moussa et J. Boukadida. 2010.** Résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées de prélèvements d'origine urinaire vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique et divers antibiotiques. *Med. Maladies Infect.*, 40: 161–164.

- **Fisher J., S.O. Meroueh et S. Mobashery. 2005.** Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev.*, 105: 395-424.
- **Grall N., A. Andremont et L.A. Lefèvre. 2011.** Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse?. *Journal des anti-infectieux.*, 16: 1-16.
- **Guessennd N., S. Bremont, V. Gbonon, A. Kacou-NDouba, E. Ekaza et T. Lambert. 2008.** Qnr-type quinolone resistance in extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in Abidjan, Ivory Coast. *Pathol Biol.*, 56: 439-46.
- **Guillemot D. 1999.** Antibiotic use in humans and bacterial resistance. *Curr Opin Microbiol.*, 2 : 494–498.
- **Gupta K., T.M. Hooton, K.G. Naber, B. Wullt, R. Colgan, L.G. Miller, G.J. Moran, L.E. Nicolle, R. Raz, A.J. Schaeffer et D.E. Soper. 2011.** International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Infect. Dis.*, 52: 103-120.
- **Gyles C.L. 2008.** Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. *Anim. Health Res. Rev.*, 9: 149-158.
- **Hansen L.H., L.B. Jensen, H.I. Sørensen et S.J. Sørensen. 2007.** Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother.*, 60: 145–7.
- **Hansen L.H., E. Johannesen, M. Burmølle, A.H. Sørensen et S.J. Sørensen. 2004.** Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 48: 3332–7.
- **Harifi Mood E., Z. Meshkat, N. Izadi, M. Rezaei, S. Amel Jamehdar et M. Naderi Nasab. 2015.** Prevalence of Quinolone Resistance Genes Among Extended-Spectrum BLactamase-Producing *Escherichia coli* in Mashhad, Iran. *Jundishapur J Microbiol.*, 8: 16217.
- **Ho P.I., K.S. Yip, K.H. Chow, J.Y.C. Lo, T.L. Que et K.y. Yuen. 2010.** Antimicrobial resistance among uropathogens that cause acute uncomplicated cystitis in women in Hong Kong: a prospective multicenter study in 2006 to 2008. *Diagn. Micr. Infec. Dis.*, 66: 87–93.
- **Hooper D.C. 2001.** Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* ., 7: 337–41.
- **Huovinen P. 2001.** Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Clin. Infect Dis.*, 32:1608–1614.
- **Jacoby G.A. 2005.** Mechanisms of Resistance to Quinolones. *Clin Infect Dis.*, 41: 120-6.
- **Jadhav S., A. Hussain, S. Devi, A. Kumar, S. Parveen, N. Gandham, L.H. Wieler, C. Ewers et N. Ahmed. 2011.** Virulence characteristics and genetic affinities of multiple drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from a semi urban locality in india. *Plos One.*, 6: e18063.
- **Jarlier V., M.H. Nicolas, G. Fournier et A. Philippon. 1988.** Extended spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in

- Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.*, 10: 867-878.
- **Jehl C., Weber, Gérard. 2004.** *De l'antibiogramme à la prescription.*
 - **Kahlmeter G. et H.O. Poulsen. 2012.** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECO·SENS study revisited. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 39: 45– 51.
 - **Kashef N., G.E. Djavid, S. Shahbazi. 2010.** Antimicrobial susceptibility patterns of community-acquired uropathogens in Tehran, Iran. *Infect. Dev. Ctries.*, 4: 202-206.
 - **Kohanski, M. A., D. J. Dwyer, B. Hayete, C.A. Lawrence et J.J. Collins. 2007.** "A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics." *Cell* .,130(5): 797-810.
 - **Kumar A. et H.P. Schweizer. 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Delivery Rev.*, 57: 1486-1513.
 - **Lee M.Y., H.J. Choi, J.Y. Choi, M. Song, Y. Song, S.W. Kim, H.H. Chang, S.I. Jung, Y.S. Kim, H.K. Ki, J.S. Son, K.T. Kwon, S.T. Heo, J.S. Yeom, S.Y. Shin, D. R. Chung, K.R. Peck, J.H. Song et K.S. Ko. 2010.** Dissemination of ST131 and ST393 communityonset, ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* clones causing urinary tract infections in Korea. *J. Infection.*, 60: 146-153.
 - **Levine C., H. Hiasa et K.J. Marians. 1998.** DNA gyrase and topoisomerase IV: biochemical activities, physiological roles during chromosome replication, and drug sensitivities. *Biochim Biophys Acta* ., 1400: 29-43.
 - **Liu, Y.Y., Y. Wang, T.R. Walsh, L.X. Yi, R. Zhang, J. Spencer, Y. Doi, G.Tian, B. Dong, X. Haung, L.F. Yu, D. Gu, H. Ren, X. Chen, L. Lv, D. He, H. Zhou, Z. Liang et J. Shen. 2016.** Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.*, 16: 161–168.
 - **Livermore D.M. 1995.** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin Microbiol Rev.*, 8(4): 557-584.
 - **Livermore D.M. 2008.** Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin. Microbiol. Infect.*, 14:3-10.
 - **Martinez P., D. Garzón et S. Mattar. 2012.** CTX-M-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolated from community-acquired urinary tract infections in Valledupar, Colombia. *J. Infect. Dis.*, 16 (5): 420–425.
 - **Martinez-Martinez L., A. Pascual et G.A. Jacoby. 1998.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* ., 351: 797-9.
 - **Matagne A., A. Dubus, M. Galleni et J.M. Frere . 1999.** The beta-lactamase cycle: a tale of selective pressure and bacterial ingenuity. *Nat Prod Rep.*, 16: 1-19.
 - **Maynard C., J.M. Fairbrother, S. Bekal, F. Sanschagrin, R.C. Levesque, R. Brousseau, L. Masson, S. Lariviere et J. Harel. 2003.** Antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149:K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 47: 3214-3221.
 - **Mérens A. et A. Servonnet. 2010.** Mechanisms and epidemiology of fluroquinolone resistance in 2010. *Rev Francoph Lab.*,422: 33-41.

- **Mitsuyama J., Y. Itoh, M. Takahata, S. Okamoto et T. Yasuda. 1992.** In vitro antibacterial activities of tosufloxacin against and uptake of tosufloxacin by outer membrane mutants of *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, and *Salmonella typhimurium*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 36: 2030-6.
- **Moremi N., E.V. Manda, L. Falgenhauer, H. Ghosh, C. Imirzalioglu, M. Matee, T.Chakraborty et S.E. Mshana. 2016.** Predominance of CTX-M-15 among ESBL Producers from Environment and Fish Gut from the Shores of Lake Victoria in Mwanza, Tanzania. *Front Microbiol.*, 7: 1862.
- **Muvunyi C.M., F. Masaisa, C. Bayingana, L. Mutesa, A. Musemakweri, G. Muhirwa et G.W. Claeys. 2011.** Decreased Susceptibility to Commonly Used Antimicrobial Agents in Bacterial Pathogens Isolated from Urinary Tract Infections in Rwanda: *Need for New Antimic. Guide. Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 84: 923–928.
- **Nauciel C. 2000.** Bactériologie médicale. Ed ellipses. pp 56.
- **Nordstrom K. 2006.** Plasmid R1--replication and its control. *Plasmid.*, 55: 1-26.
- **Norman A., L.H. Hansen, Q. She et S.J. Sørensen. 2008.** Nucleotidesequence of pOLA52: a conjugative IncX1 plasmid from *Escherichia coli* which enables biofilm formation and multidrug efflux. *Plasmid.*, 60: 59–74.
- **Ortega A., J. Oteo, M. Aranzamendi-Zaldumbide, R.M. Bartolomé, G. Bou, E. Cercenado, M.C. Conejo, J.J. González-López, M. Marín, L. Martínez-Martínez, M. Merino, F. Navarro, A. Oliver, Á. Pascual, A. Rivera, J. Rodríguez-Baño, I. Weber, B. Aracil et J. Camposa. 2012.** Spanish Multicenter Study of the Epidemiology and Mechanisms of Amoxicillin-Clavulanate Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 56: 3576–3581.
- **Park C.H., A. Robicsek, G.A. Jacoby, D. Sahm et D.C. Hooper. 2006.** Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *J Antimicrob Agents Chemother.*, 50: 3953–5.
- **Perichon B., P. Courvalin et M. Galimand. 2007.** Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 51: 2464–9.
- **Perreten V et P. Boerlin. 2003.** A New Sulfonamide Resistance Gene (*sul3*) in *Escherichia coli* Is Widespread in the Pig Population of Switzerland. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47: 1169-1172.
- **Pfeifer Y., A. Cullik et W. Witte. 2010.** Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol.*, 300, 371-9.
- **Pitout J.D.D. 2012.** Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology.*, 3: 1-7.
- **Poole K. 2005.** Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.*, 56: 20-51.
- **Putman M., H.W. van Veen et W.N. Konings. 2000.** Molecular properties of bacterial multidrug transporters. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 64: 672-93.

- **Robicsek A., J. Strahilevitz, G.A. Jacoby, M. Macielag, D. Abbanat, C.H. Park, K. Bush et D.C. Hooper. 2006.** Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med.*, 12: 83-88.
- **Rodriguez-Martinez J.M., C. Velasco, I. Garcia, M.E. Cano, L. Martinez- Martinez et A. Pascual . 2007.** Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for Enterobacteriaceae expressing the plasmid-carried quinolone resistance determinant qnrA1. *Antimicrob Agents Chemother* .,51: 2236-9.
- **Rossolini G.M., M.M. D'Andrea et C. Mugnaioli. 2008.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin. Microbiol. Infect.*, 14: 33-41.
- **Schroeder W.A., T.R. Locke et S.E. Jensen. 2002.** Resistance to beta-lactamase inhibitor protein does not parallel resistance to clavulanic acid in TEM beta-lactamase mutants. *Antimicrob. Agents Chemother* .,46: 3568-3573.
- **Servin A.L. 2014.** Pathogenesis of human diffusely adhering Escherichia coli expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges. *Clin Microbiol Rev* .,2 : 823-69.
- **Sköld O. 2001.** Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res*, 32: 261-273.
- **Soussy C.J. 2006.** Quinolones et bactéries à GRAM négatif. In: Courvalin, P., Leclercq, R., and Bingen, E. AntibioGramme. Paris ESKA 2ème édition .,21: 261-77.
- **Strahilevitz J., G.A. Jacoby, D.C. Hooper et A. Robicsek. 2009.** Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev* .,22: 664-89.
- **Tran J.H. et G.A. Jacoby. 2002.** Mechanisms of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 99: 5638–42.
- **Tran J.H., G.A. Jacoby et D.C. Hooper. 2005.** Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with Escherichia coli DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* ., 19: 118–25.
- **Typas A., M. Banzhaf, C.A. Gross et W. Vollmer. 2012.** From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology. *Nat Rev Microbiol* ., 10:123-36.
- **Vander-Stichele R.H., M.M. Elseviers, M. Ferech, S.Blott, H.Goossens. 2006.** and European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) Project Group. "Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002)". *J Antimicrob Chemother* ., 58(1): 159-167.
- **Vedel G., D. Ratovohery, G. Paul et P. Nevot. 1994.** Phénotypes de résistance des Entérobactéries aux bêta-lactamines. Laboratoire journal, eds. Pyramide. Santé Paris. 1-103.
- **Vila J., J. Ruiz, F. Marco, A. Barcelo, P. Goni, E. Giralt et T. Jimenez de anta. 1994.** Association between double mutation in gyrA gene of ciprofloxacinresistant clinical isolates of Escherichia coli and MICs. *Antimicrob Agents Chemother* .,38: 2477-9.
- **Vora S. et R. Auckenthaler. 2009.** Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique?. *Rev Med Suisse.*, 5: 1991-1994.
- **Walsh C. 2003.** Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology press. Washington.

- **WHO . 2011.** Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective. *www.euro.who.int*.
- **Wohlkonig A., P.F. Chan, A.P. Fosberry, P. Homes, J. Huang, M. Kranz, V.R. Lydon, T.J. Miles, N.D. Pearson, R.L. Perera, A.J. Shilling, M.N. Gwynn et B.D. Bax. 2010.** Structural basis of quinolone inhibition of type IIA topoisomerases and target-mediated resistance. *Nat Struct Mol Biol.*,17: 1152–3.
- **Wolff M., M.L. Joly-Guillou et O. Pajot. 2009.** Les carbapénèmases. Comparative review of carbapenemes. *Reanimation* .,18: S199-S208. 94.
- **Yahiaoui M., R. Frederic, B. Rabah, H. Moufida, B. Richard et M. Yamina. 2015.** Antibiotic Resistance, Virulence, and Genetic Background of Community-Acquired Uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria. *MICROBIAL DRUG RESISTANCE*. Volume 21, Number 5. DOI: 10.1089/mdr.2015.0045.
- **Yala D., A.S. Merad, D. Mohamedi et M.N. Ouar Korich. 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Ed Médecine du Maghreb* .,91 :1.
- **Yamane K., J. Wachino, S. Suzuki, K. Kimura, N. Shibata, H. Kato, K. Shibayama, T. Konda et Y. Arakawa. 2007b.** New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* .,51: 3354-60.
- **Yanat B., J.M. Rodríguez-Martínez et A. Touati. 2016d.** Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* .,36: 421-435.
- **Yoshida H., M. Bogaki, M. Nakamura et S. Nakamura. 1990.** Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 34: 1271-2.
- **Zechiedrich E.L., A.B. Khodursky et N.R. Cozzarelli. 1997.** Topoisomerase IV, not gyrase, decatenates products of site-specific recombination in *Escherichia coli*. *Genes Dev* .,11: 2580-92.
- **Zhao L., X. Chen, X. Zhu, W. Yang, L. Dong, X. Xu, S. Gao et X. Liu 2009.** Prevalence of virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* in Jiangsu province (China). *Urology.*, 74: 702–707.