

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et

Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire

Antifongiques, Antibiotiques : Physico-chimie, Synthèse et activité biologique



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

En Biologie

Option : Contrôle du développement microbien

Intitulé



**Profils de résistance aux quinolones de souches communautaires
d'*Escherichia coli***

Présentée par :

BENLAZAR Nabila



Soutenu devant le jury :

❖ Mme Bouchrit Z.	Professeur	Présidente
❖ Mme Hassaine H.	Professeur	Examinatrice
❖ Mme Kazi Tani Z.	Maître Assistant A	Promotrice

Année Universitaire : 2013-2014

Remerciements

Je tiens à remercier plus particulièrement M^{me} KAZI TANI Z, pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour ses encouragements, sa disponibilité et sa patience, je la remercie d'avoir conseillé dans la réalisation de ce projet et du soutien qu'elle m'a toujours manifesté.

Je tiens à remercier profondément M^{me} BOUCHERIT Z, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Mes remerciements les plus sincères à M^{me} HASSAINE H, pour avoir accepté d'examiner ce mémoire, pour toute son aide, sa gentillesse et ses conseils. Je saisis cette occasion pour vous exprimer mes sentiments de respect et de gratitude.

Je remercie chaleureusement tous les membres du laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et Activité biologique ».

Enfin, je tiens à exprimer mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont permis de réaliser ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A

Mes très chers parents,

Pour leur amour, leurs encouragements et leurs sacrifices

Mes frères et ma sœur et toute ma famille.

Mes amies Samia, Fouzia, Asma, Ikram et Ammaria.

Liste des abréviations

°C : degré celsius.

µg : µ gramme

ADH : Arginine DiHydrolase .

ADN : Acide désoxyribonucléique.

CA-SFM : comité d'antibiogramme-société française de microbiologie.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DO : Densité Optique

ONPG : Orthonitrophényl-B-D-galactopyrannoside.

UFC: Unité Format Colonie

VP : Voges Proskauer.

Liste des figures

Figure 1. Structure de base des quinolones.....	3
Figure 2. Mécanisme de diffusion intra-bactérienne des quinolones.....	4
Figure 3. Mécanisme de bactéricidie des quinolones.....	5
Figure 4. Schématisation des différents mécanismes de résistance aux quinolones.....	6
Figure 5. Identification par galerie API 20E	11

Liste des tableaux

Tableau 1. Phénotype de résistance aux quinolones testées chez les souches communautaires d' <i>E.coli</i>	12
---	----

SOMMAIRE

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1. <i>Escherichia coli</i>	2
1.1. Généralités	2
1.2. Habitat	2
1.3. Caractères bactériologique	2
1.4. Caractères antigéniques	2
1.5. Pouvoir pathogène	3
2. Quinolones	3
2.1. Définition.....	3
2.2. Classification.....	3
2.3. Mécanisme d'action	4
3. Résistance d'<i>E.coli</i> aux quinolone	5
3.1. Résistance chromosomique	6
3.2. Résistance plasmidique	7
Matériel et méthodes	
1. Matériel	8
1.1. Souches bactériennes	8
1.2. Tests biochimiques et antibiotiques	8
2. Méthodes	8

2.1. Isolement et purification	8
2.2. Identification	8
2.2.1. Principe	8
2.2.2. Inoculation de la galerie	8
2.2.3. Lecture de la galerie	9
2.3. Antibiogramme	9
2.3.1. Préparation de l'inoculum	9
2.3.2. Application des disques	9
2.3.3. Lecture	10
2.4. Détermination de la CMI en milieu solide	10
2.4.1. Principe	10
2.4.2. Technique	10
Résultats et discussion	
1. Résultats	11
1.1. Isolement et identification	11
1.2. Résistance d' <i>E.coli</i> aux quinolones	11
1.3. Phénotypes de résistance d' <i>E.coli</i> aux quinolones	11
2. Discussion	13
Conclusion	15
Références bibliographiques	16
Les annexes	21

Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques a augmenté dans des proportions inquiétantes ces dernières années et elle est devenue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale (**Ben Redjeb et al., 2000**). En effet, l'avènement des fluoroquinolones dans les années 80 a suscité un énorme engouement dans la communauté médicale, justifié par le spectre d'activité de cette classe antibiotique, sa tolérance, et sa très bonne diffusion dans les tissus, même après administration par voie orale (**Labetoulle et Chiquet, 2008**). Le principal problème lié à l'utilisation des quinolones a été l'émergence puis l'augmentation de la prévalence de la résistance acquise chez des bactéries responsables d'infections humaines, et en particulier les entérobactéries dont *Escherichia coli* (**Honoré et al., 2006**). La majorité des études montrent que cette bactérie est le germe le plus impliqué en pathologie infectieuse aussi bien en milieu hospitalier qu'en pratique de ville. Il est responsable d'environ 70% d'infection urinaire en ville (**De Moyet et al., 1999**).

La connaissance de l'état actuel de la résistance d'*E.coli* aux quinolones isolée à partir des urines permet d'optimiser le choix thérapeutique et par conséquent d'améliorer le pronostic de ces infections. L'objectif de ce travail est de déterminer les profils de résistance aux quinolones d'une collection de souches communautaires d'*E. coli*.

Synthèse bibliographique

1. *Escherichia coli*

1.1. Généralités

Le nom *Escherichia coli* a été donné en hommage aux travaux du pédiatre allemand Théodore Escherich qui décrit pour la première fois, en 1885, le bacille *Bacterium coli* dans des selles de nourrisson. *E.coli* fait partie de la microflore bactérienne normale du tractus digestif de l'homme ainsi que de celle de la plupart des animaux à sang chaud (**Gouali et Xavier Weil, 2012**).

1.2. Habitat

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme, il est présent à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de selles, densité cependant très inférieure à celle des anaérobies. La présence d'*E.coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale (**Avril, 1997**).

1.3. Caractères bactériologiques

E.coli est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des enterobacteriaceae. Il se développe sur gélose ordinaire, produit habituellement de l'indole, fermente le lactose, mais ne produit pas d'acétone (**Fauchère et Avril, 2002**). La plupart des souches d'*E.coli* se multiplient rapidement (18 à 24 heures) sur les milieux habituels. Les colonies ont en moyenne 2 mm de diamètre, elles sont rondes, plates et à bords réguliers (**Joly et Beynaud, 2002**).

E.coli est bien connu pour pouvoir croître à 44°C et exprimer normalement ses activités métaboliques à cette température ; par contre il ne pousse que très lentement ou pas du tout à 4-6°C (**Grimont, 1987**).

1.4. Caractères antigéniques

Les antigènes O sont associés aux lipopolysaccharides de la paroi et ont une variabilité qui permet de décrire au moins 164 spécificités. Les antigènes H sont associés aux protéines des flagelles et sont également variés. Leur identification permet de déterminer le sérotype d'une souche de colibacille. Les antigènes K sont de nature polysaccharidique et sont inégalement répartis dans l'espèce. Certains constituent une véritable capsule semblable à celle des *Klebsiella* (**Joly et Beynaud, 2002**).

1.5. Pouvoir pathogène

E.coli est le germe le plus fréquemment impliqué en pathologie infectieuse aussi bien en milieu hospitalier qu'en pratique de ville (**Lavigne et al., 2002**). Il possède des propriétés particulières (pouvoir d'adhésion, production de toxines..) nécessaires au pouvoir infectieux (**Joly et Reynaud, 2002**). *E.coli* est responsable d'infections diverses telles que les infections urinaires communautaires (**Fabre et al., 2010**), les infections abdominales, les bactériémies et les infections intestinales (**Fauchère et Avril, 2002**).

2. Quinolones

2.1. Définition

Les quinolones sont une des trois principales familles d'antibiotiques utilisés en thérapeutique humaine. Ce sont des antibactériens de synthèse dérivés de l'acide nalidixique, chef de file des quinolones classiques, longtemps indiquées dans le traitement des infections urinaires (**Honoré et al., 2006**). Toutes les molécules possèdent un cycle pyridine dont l'azote peut être diversement substitué (**Soussy, 2006**) (figure1).

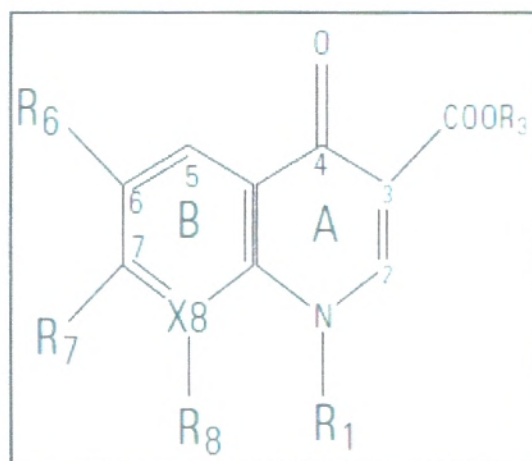


Figure 1. Structure de base des quinolones (Cambau et Guillard, 2012)

2.2. Classification

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides et sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché :

-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 (**Andriole, 2005**).

-Les quinolones de deuxième génération, communément appelées fluoroquinolones, sont caractérisées biologiquement par un plus grand spectre d'action et une meilleure biodisponibilité. Ces caractéristiques sont en partie liées à la présence d'un atome de fluor en position 6 d'où leur appellation commune (Van Bambeke, 2005). On retrouve dans cette classe la norfloxacin, l'ofloxacin, la péfloxacin et la ciprofloxacin.

-Les molécules de troisième génération, dites fluoroquinolones anti-peumococciques, ont été développées pour étendre le spectre à *Streptococcus pneumoniae*. On retrouve dans cette classe la sparfloxacin, la lévofloxacin et la moxifloxacin (Andriole, 2005).

-Les fluoroquinolones de quatrième génération (la trovafloxacin, la gatifloxacin) présentent une activité accrue sur les bactéries anaérobies strictes (Andriole, 2005). Cette classe combine les caractéristiques de deuxième et troisième génération (Van Bambeke, 2005).

2.3. Mécanisme d'action

Pour atteindre leur cible, les quinolones doivent traverser la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique et la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif. Cette étape est facilitée par une diffusion passive à travers les porines, en fonction de leur degré d'hydrophobicité et de leur poids moléculaire, et éventuellement par un passage direct à travers la double couche phospholipidique (Merensa et Servonneta, 2010) (figure 2).

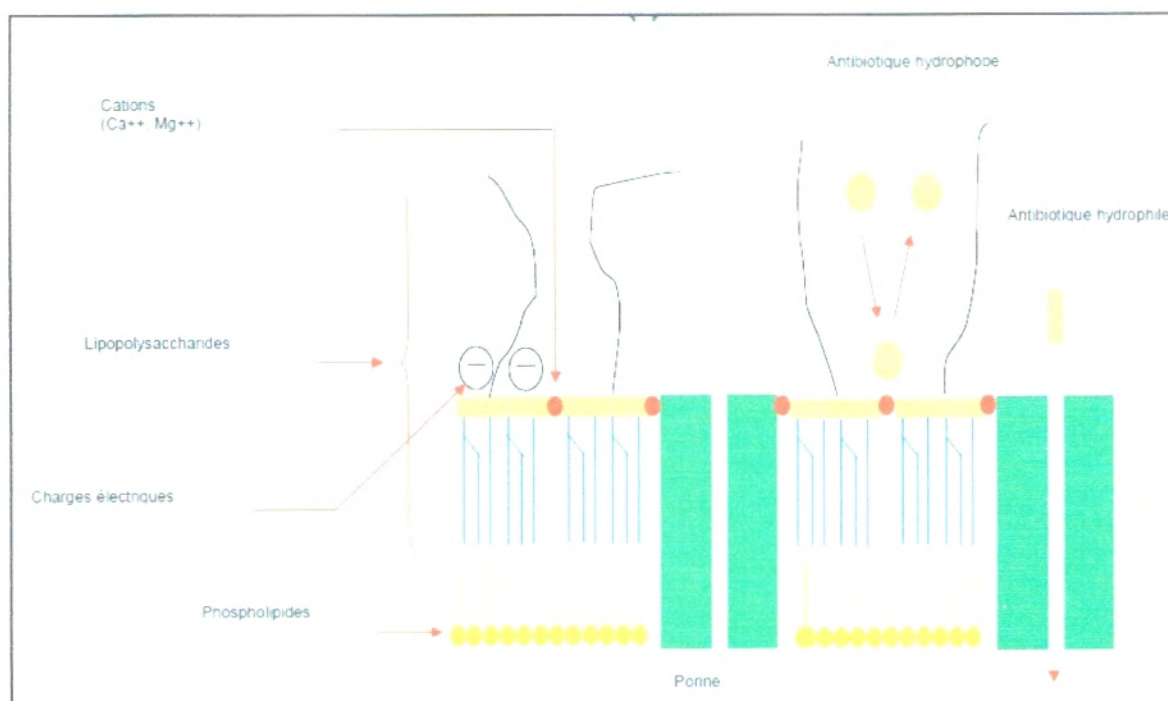


Figure 2. Mécanisme de diffusion intra-bactérienne des quinolones (Kohanski et al., 201

Les quinolones inhibent l'action des topoisomérases de type II : l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (**Hooper, 1999**). Ces enzymes sont essentielles à la croissance bactérienne en contrôlant la topologie de l'ADN lors des étapes de réplication, de transcription, et de recombinaison/réparation de l'ADN. L'ADN gyrase est généralement la cible préférentielle chez les bactéries à Gram négatif (**Cattoir, 2012**).

L'action bactériostatique des quinolones est suivie d'une activation du système SOS, secondaire au signal engendré par le blocage de la réplication et l'accumulation de l'ADN coupé, responsable de l'effet bactéricide (**Merensa et Servonneta, 2010**) (**figure 3**).

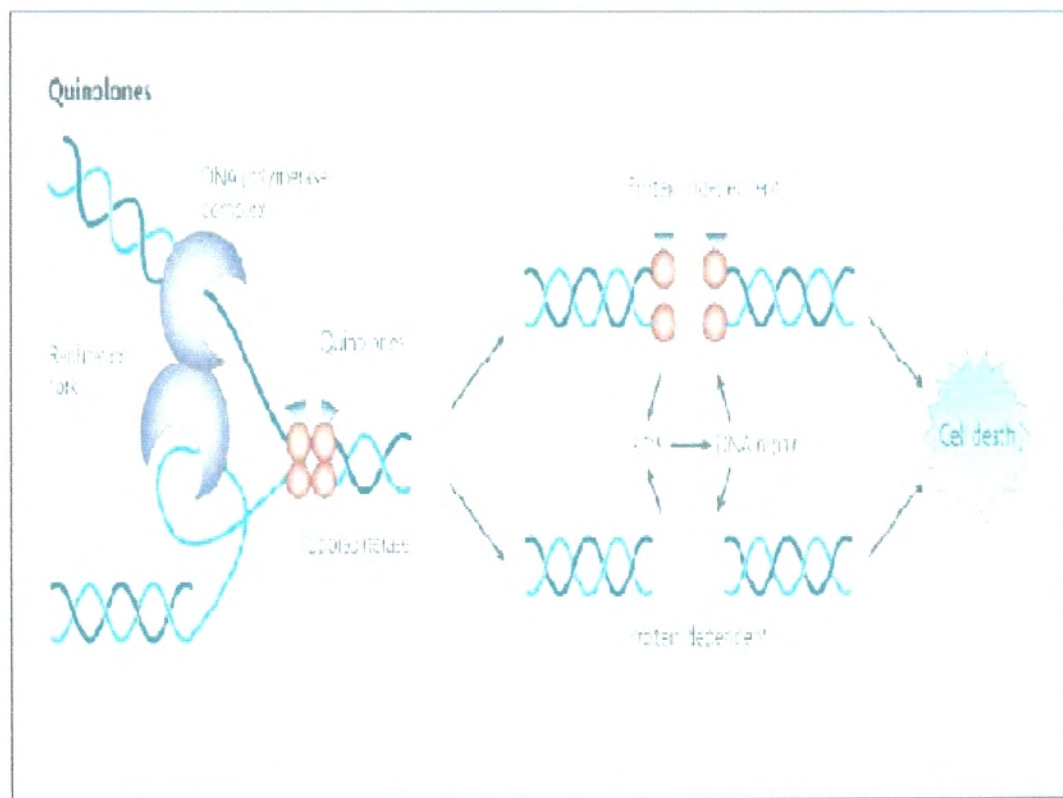


Figure 3 .Mécanisme de bactéricidie des quinolones (Kohanski et al., 2010)

3. Résistance d'*E.coli* aux quinolones

Jusqu'en 1998, il était admis que la résistance aux quinolones était liée exclusivement à des mécanismes de résistance de support chromosomique, transmissibles verticalement. Il s'agissait majoritairement de mécanismes de sélection de mutants résistants par accumulation de mutations ponctuelles. Depuis 1998, la découverte de gènes de support plasmidique impliqués dans la résistance aux quinolones chez les entérobactéries (**Martinez-Martinez, 1998**), a suscité de nombreuses études épidémiologiques qui ont mis en évidence leur large diffusion au

sein d'éléments génétiques mobiles, transférables horizontalement (Merensa et Servonneta, 2010) (figure 4).

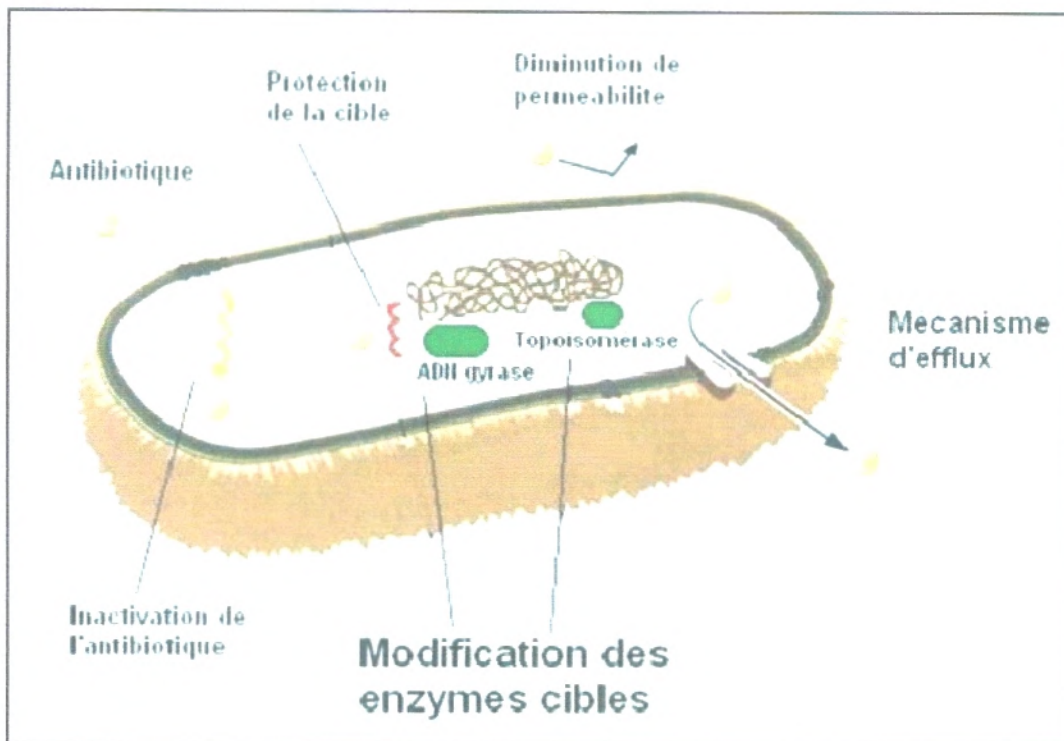


Figure 4. Schématisation des différents mécanismes de résistance aux quinolones (Merensa et Servonneta, 2010)

3.1. Résistance chromosomique

La résistance aux quinolones est principalement chromosomique, généralement due à une diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible (Ruiz, 2003). Ceci est dû à une modification de l'ADN gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles. Ce mécanisme est le seul responsable du phénotype de résistance de haut niveau aux fluoroquinolones. Les mutations apparaissent quasi exclusivement dans de courtes régions conservées des deux protéines appelées « *quinolone resistance-determining regions* » (QRDR) (Ruiz, 2003). Ce type de résistance est multi-étapes avec une première mutation facilitant la sélection d'une seconde et ainsi de suite (Hooper, 2002 ; Jacoby, 2005).

Un phénotype de résistance, en général de bas niveau, peut être dû à une diminution d'accumulation intracellulaire de l'antibiotique par imperméabilité ou efflux actif (Ruiz, 2003).

- Le mécanisme d'imperméabilité est dû à une modification qualitative ou quantitative d'une porine de la membrane externe des bactéries à Gram négatif impliquée dans l'entrée de fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacine, ciprofloxacine) (Cattoir, 2012).

- L'efflux actif est dû à l'hyper-expression de systèmes de pompes d'efflux par mutations au niveau des régions régulateurs. Il confère généralement un phénotype de résistance croisée à plusieurs familles d'antibiotiques de structures différentes (**Cattoir, 2012**).

3.2. Résistance plasmidique

Trois mécanismes de résistance plasmidique, responsables d'un phénotype de résistance de bas niveau ont été décrits (**Cattoir et Nordmann, 2009**) :

-Le premier est dû à une protection de la cible par les protéines Qnr et confère une résistance à l'acide nalidixique et une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones (**Martinez et al., 1998**)

-Le deuxième mécanisme implique l'acétyltransférase AAC(6')-Ib-cr qui inactive certaines fluoroquinolones (norfloxacin, ciprofloxacine) avec une légère diminution de sensibilité (**Robricsek et al., 2006**)

-Le troisième mécanisme est un efflux actif plasmidique (pompe QepA) responsable d'une diminution de sensibilité aux fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacin, ciprofloxacine) (**Yamane et al., 2007, Perichon, 2007**)

Les mécanismes de résistance plasmidique ont été décrits chez les bactéries à Gram négatif, généralement associés aux mécanismes chromosomiques (**Cattoir et Nordman, 2009**)

Matériel et méthodes

- pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures.

2.2.3. Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
 - Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
 - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
 - Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

2.3. Antibiogramme (CA-SFM., 2013)

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, selon les recommandations du CA-SFM.

2.3.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture bactérienne de 24h sur milieu gélosé, réaliser une suspension en ensemençant une colonie dans 5mL d'eau physiologique.
- Calibrer la densité optique (DO) de la culture obtenue à une DO de 0,08-0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à 10^8 UFC/ml.
- Diluer la suspension inoculum au 1/10 ($\sim 10^7$ UFC/ml) dans l'eau physiologique.
- Ensemencer par écouvillonnage sur la gélose Mueller Hinton.

2.3.2. Application des disques

Les disques d'antibiotiques sont appliqués sur les boîtes de Pétri à l'aide d'une pince stérile.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Résultat d'identification :

L'identification par galerie API 20 E nous a permis de confirmer l'appartenance des souches au genre espèce *Escherichia coli* (figure 5). Inscrite les caractères biochimiques suivant : uréase-, indole +, ADH -, citrate de Simmons -, VP -, Gaz en glucose +.

Ces souches ont été toutes isolées à partir d'urines chez des malades consultant en milieu communautaire.



Figure 5. Identification par galerie API 20E

1.2. Résistance d'*E.coli* aux quinolones

L'étude de la sensibilité aux quinolones a montré que 6 souches (B1, B2, B3, B6, G714 et G1034) étaient résistantes à l'acide nalidixique, à la ciprofloxacine et à la norfloxacine. Les 2 souches restantes (B4, B5) étaient sensibles pour les trois antibiotiques (Tableau 1). Les niveaux de CMI vis-à-vis de la ciprofloxacine étaient de 16 à 128 μ g/ml pour les souches résistantes et de 0.25 μ g/ml pour les souches sensibles.

La résistance aux quinolones chez les souches étudiées est probablement liée à l'utilisation non contrôlée de ces molécules en milieu communautaire.

1.3. Phénotypes de résistance d'*E.coli* aux quinolones

L'analyse des phénotypes de résistance aux quinolones d'*E.coli* isolées en milieu communautaire montre un phénotype de résistance probablement chromosomique (Tableau 1).

Résultats et discussion

Tableau 1: Phénotype de résistance aux quinolones testées chez les souches communautaires d'*E.coli*

Souches	Ciprofloxacine		Acide nalidixique	Norfloxacine	Phénotype de résistance suspecté
	Antibiogramme	CMI(mg /ml)			
B1(7044552)	12(R)	16 (R)	(R)	(R)	2mutations GyrA +1mutation ParC
B2(7044552)	(R)	128(R)	(R)	(R)	2mutations GyrA +1 mutations ParC
B3(7044552)	13(R)	64(R)	(R)	(R)	2mutations GyrA +1mutation ParC
B4(7044552)	36(S)	0.25(S)	30(S)	30(S)	Sauvage
B5(7044552)	30(S)	0.25(S)	24(S)	34(S)	Sauvage
B6(7044552)	21(R)	16(R)	19(R)	20(R)	2mutations GyrA +1mutation ParC
G714(7044552)	(R)	64(R)	(R)	(R)	2mutations GyrA +1mutation ParC
G1034(7044552)	11(R)	64(R)	(R)	(R)	2mutations GyrA +1mutation ParC

2. Discussion

E.coli est de loin le germe le plus fréquemment isolé d'infection urinaire en milieu communautaire (**Prére et al., 2004**).

Ses taux de résistance varient en fonction du lieu d'isolement, du caractère nosocomial ou communautaire de l'infection et de l'antibiotique testé. Les quinolones sont largement utilisées en pathologie infectieuse urinaire. Les mécanismes de résistances à cette classe d'antibiotique chez les entérobactéries résultent essentiellement de modifications ponctuelles des cibles, les topoisomérases, et plus rarement d'une diminution de la concentration intracellulaire de ces antibiotiques par imperméabilité membranaires et ou surexpression des systèmes d'efflux (**Hooper, 2001**).

Dans notre travail, 6 souches sur 8 étaient résistantes à l'acide nalidixique et aux fluoroquinolones testées (ciprofloxacine et norfloxacine). Les niveaux de CMI obtenus pour la ciprofloxacine étaient de 16µg/ml jusqu'à 128µg/ml. Le mécanisme de résistance suspecté chez ces souches est l'association de deux mutations (2mutations GyrA +1mutation ParC).

Les premières mutations apparaissent dans la QRDR de GyrA au niveau des codons préférentielles 83 et 87 ce qui confère un haut niveau de résistance à l'acide nalidixique et un bas niveau de résistance à la ciprofloxacine ;des mutations dans ParC n'apparaissent qu'après une ou plusieurs mutations dans Gyr A, résultant en une résistance de haut niveau à toutes les fluoroquinolones (**Vila et al., 1994 ; Vila et al., 1996**).

Une étude menée à l'institut Pasteur d'Algérie a montré un taux de résistance des souches d'*E.coli* de 11,95% pour la ciprofloxacine et 22,78% à l'acide nalidixique en milieu communautaire (**Rahal et al., 2009**).

Dans notre travail, les 6 souches qui présentaient une résistance à l'acide nalidixique étaient également résistantes à la ciprofloxacine. Le faible nombre de souches étudiées ne nous a pas permis d'apporter des données par rapport aux taux de résistance à ces deux molécules en milieu communautaire au niveau de la wilaya de Tlemcen.

L'augmentation de la résistance d'*E.coli* aux fluoroquinolones récemment signalée dans plusieurs pays dont l'Espagne et le Portugal, est corrélée avec l'utilisation particulièrement élevée de ces molécules (**Kahmeter, 2003**). L'exposition aux fluoroquinolones est bien identifiée par plusieurs auteurs comme un facteur important de risque d'émergence de souches résistantes à la ciprofloxacine (**Kahmeter et al., 2003**).

Aucun mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones (PMQR) n'a été suspecté chez les souches étudiées. Ces mécanismes (PMQR) ont cependant été récemment rapportés chez

Conclusion

Escherichia coli est le germe le plus impliqué en pathologie infectieuse aussi bien en milieu hospitalier qu'en pratique de ville.

L'analyse de l'antibiorésistance de huit souches d'*E.coli* isolées de prélèvements d'urines de patients consultant en milieu communautaire a montré que 6 souches étaient résistantes à l'acide nalidixique, à la ciprofloxacine et à la norfloxacine.

Le mécanisme de résistance suspecté chez ces souches est l'association de mutations (2mutations GyrA +1mutation ParC). Ce mécanisme est responsable du phénotype de résistance à haut niveau aux fluoroquinolones.

L'usage des fluoroquinolones en milieu communautaire peut conduire à la sélection de souches exprimant des mécanismes pluri-spécifiques et leur conférant des propriétés de résistance multiple.

La surveillance de la résistance aux antibiotiques en milieu communautaire devient impérative afin d'éviter l'émergence et la dissémination des souches résistantes et de préserver l'efficacité des antibiotiques.

Références bibliographiques

1. **Andriole V.T., (2005).** The quinolones: past, present, and future. *Clin. Infect. Dis.*, 41 Suppl 2: 113-9.
2. **Avril J-L., (1997).** Nouveau dictionnaire pratique de bactériologie clinique. Ellipses : édition marketing S.A. Paris. P : 59.
3. **Baba Ahmed-Kazi Tani Z., Derré D., Genel N., Boucherit-Otmani Z., Arlet G., Drissi M., (2013).** Molecular and Epidemiological characterisation of Enterobacterial Multidrug-Resistant strains in Tlemcen hospital(Algeria) (2008-2010).*Microbiol Drug Resistance*, 19(3):185-190.
4. **Ben Rejeb S., Ben hassen A., Hammami A., Kechrid A., (2000).** Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. « Résistance aux antibiotiques ». *Press. Med.*,1-5.
5. **Cambau E., Guillard T., (2012).** Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques. *Rev. sci. tech. int. Epiz.*, 31(1) : 65-76.
6. **CA-SFM, (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.
7. **Cattoir V., (2012).** Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des laboratoires*, 445: 79-87.
8. **Cattoir V., Nordman P., (2009).** Plasmid- mediated quinolone resistance in GRAM negative bacterial species: an update. *Curr .Med .Chem.*, 16: 1028- 46.
9. **Courvalin P., Leclerck R., Bingen E., (2006).** Antibiogramme. Paris. ESKA: 2^{ème} édition.

10. **De Moy D., Cavallo J., Armengaud M., Arzouni J., Berges J., Bouilloux J., et al., (1999).** Urinary tract infection in an urban population: etiology and antibiotic sensitivity as a function of patient history. *Press. Med.*, 28: 1624-8.
11. **Fabre R., Mérens A., Lefebvre F., Epifanoff G., Cerutti F., Pupin H., Tardif D., Cavallo J.D., Ternois I., (2010).** Sensibilité aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires. *Médecine et maladies infectieuses*, 40:555-559.
12. **Fauchère J-L., Avril J-L., (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing S.A. Paris. P: 239.
13. **Gharout-Sait A., Touati A., Benallaoua S., Guillard T., Brasme L., Madoux J., DE CHAMPS C., (2012).** CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African journal of Microbiology Research*, 6(25):5306-5313.
14. **Gouali M., Xavier Weill F., 2013.** Les *Escherichia coli* entérohémorragiques: des entérobactéries d'actualité. *Press. Med.*, 42: 68-75.
15. **Grimont P.A.D., (1987).** Taxonomie des escherichia. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Numéro Spécial, 6-10.
16. **Honoré S., Lascols C., Malin D., Targaouchi R., Cattoir V., Legrand P., Soussy C.J., Cambau E., (2006).** Emergence et diffusion chez les entérobactéries du nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones Qnr (résultats hôpital Henri-Mondor 2002-2005). *Pathologie Biologie*, 54 :270-279.
17. **Hooper D.C., (2001).** Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg. Infect. Dis.*, 7:337-41.

18. **Hooper D.C., (2002).** Fluoroquinolone resistance among GRAM -positive cocci. *Lancet. Infect. Dis.*, 2: 530-8.
19. **Jacoby G.A., (2005).** Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 41 Suppl 2: 120-6.
20. **Joly B., Reynaud A., (2002).** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition TEC et DOC. Lavoisier. Chapitre 2. P: 28-31.
21. **Kahlmeter G., (2003).** Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO. SENS study. *Int .J. Antimicrob. Agents.*, 22: 49-52.
22. **Kahlmeter G., Menday P., Cars O., (2003).** Non-hospital antimicrobial usage and resistance in community -acquired *Escherichia coli* urinary tract infection. *J .Antimicrob .Chemother.*, 52: 1005-10.
23. **Kohanski M.A., Dwyer D.J., Collins J.J., (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8: 423-435.
24. **Laboutelle M., Chiquet C., (2008).** Les fluoroquinolones en ophtalmologie : modes d'actions et mécanismes de résistance. Endophtalmie-Partie III. *J.Fr. Ophtalmol.* 31(8): 795-801.
25. **Lavigne J.P., Sotto A., Merle C., Jourdan J., Soussy C.J., Sirot D., (2002).** Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux B- Lactamines et prévalence en clinique. *Pathol. Biol.*, 50 :388-93.
26. **Martinez-Martinez L., Pascual A., Jacoby GA., (1998).** Quinolones resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 351: 797-9.

27. Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J-D., Timinouni M., (2011). Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6')-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie*, 59 :73-78.
28. Mérens A., Servonnet A., (2010). Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Revue Francophone des laboratoires*, 422:33-41.
29. Perichon B., Courvalin P., Galimand M., (2007). Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G 1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 51: 2464-9.
30. Prère M.F., Licznar P., Decramer S., Fayet O., (2004). *Escherichia coli* des infections urinaires et pyélonéphrites aiguës en pédiatrie: 1% des souches sont résistantes à certaines céphalosporines de 3e génération. *Pathol. Biol.*, 52: 497-500.
31. Rahal K., Belouni R., Tali-Maamar H., Boudouane M., Missoum M.F.K., Benslimani A., Aboun A., (2009). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. 11^{ème} Rapport d'évaluation. Institut Pasteur d'Algérie, P: 76.
32. Robicsek A., Strahilevitz J., Jacoby G.A., (2006). Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransférase. *Nat. Med.*, 12: 83-8.
33. Ruiz J., (2003). Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection . *J. Antimicrob. Chemother.*, 51: 1109-17.
34. Soussy C.J., (2006). Quinolones et bactéries à GRAM négatif. In. Courvalin P, Leclerk R, Bingen E. AntibioGramme. Paris. ESKA: 2^{ème} édition. Chapitre 21. P: 261-277.
35. Van Bambeke F., Michot J.M., Van Eldere J., Tulkens P.M., (2005). Quinolones in 2005: an update. *Clin. Microbiol. Infect.*, 11: 256 -80.

36. Vila J., Ruiz J., Marco F., (1994). Association between double mutation in gyr A gene of ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. *Antimicrob. Agents Chemother*, 38: 2477-9.
37. Vila J., Ruiz J., Goni P., De Anta M.T., (1996). Detection of mutations in parC in quinolone -resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 40: 491-3.
38. Yamane K., Wachino J., Suzuki S., (2007). New plasmid- mediated fluoroquinolone efflux pump, QuepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother*, 51: 3354-60.

Annexes

Annexe1. Tableau de lecture d'une galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	Réactions enzymatiques	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopuranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-ornithine	Orthine DéCarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du CITrate	Vert pâle/Jaune	Bleu-vert /Bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H ₂ S	Incolore/ Grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	UREase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane DésAminase	Jaune	Marron-rougeâtre ^(*)
IND	L-tryptophane	Production d'INDole	Incolore Vert pale /Jaune	Rose ^(*)
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	Incolore	Rose/rouge ^(**)
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxidation GLUcose	Bleu/bleu vert	Jaune/Jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxidation MANnitol	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxidation INOsitol	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxidation SORbitol	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxidation RHAMnose	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxidation SACcharose	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxidation MELibiose	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxidation AMYgdaline	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxidation ARABinose	Bleu/bleu vert	Jaune

(^{*}) : Réaction immédiat ; (^{**}) : VP 1 + VP 2 / 10 minutes

**Annexe 3. Concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés
(CA-SFM, 2013)**

Antibiotiques		Charge du disque	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
			S	R	S	R
Quinolones	Acide oxolinique	10µg	≤2	>4	≥ 20	<17
	Fluméquine	30µg	≤4	>8	≥25	<21
	Acide nalidixique	30µg	≤8	>16	≥ 20	<15
	Acide pipémidique	20µg	≤ 8	>16	≥ 19	<14
	Acide piromidique	25µg	≤ 16	>32	≥ 20	<16
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5µg	≤ 0.5	>1	≥25	<22
	Enoxacine	5µg	≤1	>2	≥22	<19
	Lévofloxacine	5µg	≤1	>2	≥20	<17
	Loméfloxacine	5µg	≤1	>2	≥22	<19
	Moxifloxacine	5µg	≤0.5	>1	≥24	<21
	Norfloxacine	5µg	≤0.5	>1	≥25	<22
	Ofloxacine	5µg	≤0.5	>1	≥25	<22
	Péfloxacine	5µg	≤ 1	>4	≥22	<16
Sparfloxacine	5µg	≤ 1	>2	≥ 20	<16	

Annexe 4. Préparation des solutions d'antibiotiques (Courvalin et *al.*, 2006)

Solution initiale (µg/ml)	Solution mère (ml)	Eau distillée stérile (ml)	Concentration obtenue (µg/ml)	Concentration finale dans le milieu (µg/ml)
5120	2	2	2560	256
5120	1	3	1280	128
5120	0,5	2,3	640	64
5120	0,5	7,5	320	32
320	2	2	160	16
320	1	3	80	8
320	0,5	3,5	40	4
320	0,5	7,5	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0,5
20	0,5	3,5	2,5	0,25
20	0,5	7,5	1,25	0,125

ملخص

إشيريشيا كولي تمثل الكائن الأكثر وجودا في الأمراض المعدية في المجتمع. تحليل ظواهر المقاومة للمضادات الحيوية كينولون لثمانية سلالات لإشيريشيا كولي المعزولة من عينات البول لمرضى من المجتمع يدل على الكشف عن ترايط الطفرات (طفرتين GyrA + طفرة ParC) هذا فيما يخص ستة سلالات. يتميز هذا النمط الظاهري بمقاومته لحمض النليديكسيك و السبيروفلوكسسين والتورفلوكسسين وهو المسؤول على المقاومة العالية المستوى للفليوروكينولون. السلالتان المتبقيتان لديهما النمط الظاهري من النوع البري.

كلمات مفتاحية: إشيريشيا كولي- الجماعة- كينولون- النمط الظاهري للمقاومة.

Résumé

Escherichia coli est le germe le plus fréquemment impliqué en pathologie infectieuse dans la communauté. L'analyse des phénotypes de résistance aux quinolones de huit souches d'*E.coli* isolées de prélèvements d'urines de patients consultant en milieu communautaire a montré l'association de mutations (2 mutations GyrA+1 mutation ParC) pour les six souches. Ce phénotype est caractérisé par une résistance à l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et la norfloxacine. Il est responsable d'une résistance à haut niveau aux fluoroquinolones. Les deux souches restantes ont présenté un phénotype sauvage.

Mot clés : *E.coli*- communautaire- quinolones – phénotype de résistance.

Summary

Escherichia coli is the organism most frequently involved in infectious diseases in the community. Analysis of the phenotypes of resistance to quinolone antibiotics of eight strains of *E.Coli* isolated from urine of patients consulting in the community showed the association of mutations (2 mutations GyrA +1mutation ParC) for the six strains. This phenotype is characterized by resistance to nalidixic acid, norfloxacin and ciprofloxacin. He is responsible for a high level of resistance to fluoroquinolones. Both remaining strains presented a wild phenotype.

Keyword: *E.coli*-Community - quinolones – phenotype of resistance.