



P

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO
FACULTE DE PHARMACIE (FAPH)



ANNEE UNIVERSITAIRE 2023-2024

N°.....

THEME

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Présentée et soutenue publiquement le 31 /12/2024 devant la Faculté de Pharmacie

Par :

M. AMADOU TIMBELY

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Jury

Président : M. Issa KONATE, Professeur Titulaire (FMOS)

Directeur : M. Ibrehima GUINDO, Maître de conférences agrégé (FAPH)

Membres : M. Yacouba CISSOKO, Maître de conférences agrégé (FMOS)

: M. Mahamadou ABDOU, Pharmacien microbiologiste (Invité INSP)

: M. Mohamed AG BARAIKA, Maître Assistant (FAPH)

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi**



U.S.T.T-B

FACULTE DE PHARMACIE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITE 2023-2024

ADMINISTRATION

Doyen : Sékou BAH, Professeur

Vice-doyen : Souleymane DAMA, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Abdoulaye	DABO	Malacologie-Biologie animale
5	Yaya	COULIBALY	Législation
6	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
7	Mouctar	DIALLO	Parasitologie-Mycologie
8	Souleymane	DIALLO	Bactériologie- Virologie
9	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie Humaine
10	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
11	Boukassoum	HAÏADARA	Législation
12	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
13	Alou A.	KEÏTA	Galénique
14	Ousmane	KOÏTA	Biologie moléculaire
15	Mamadou	KONE	Physiologie
16	Brehima	KOUMARE	Bactériologie- Virologie
17	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
18	Saïbou	MAÏGA	Législation
19	Mahamadou	TRAORE	Génétique

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

20	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie
----	-----------------	--------	----------

PROFESSFURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique
4	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
5	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
6	Moussa	SANOGO	Gestion pharmaceutique

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Professeur	Hématologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Professeur	Immunologie-Génétique
3	Alassane	DICKO	Professeur	Santé Publique
4	Abdoulaye	DJIMDE	Professeur	Parasitologie-Mycologie
5	Amagana	DOLO	Professeur	Parasitologie-Mycologie
6	Aldjouma	GUINDO	Professeur	Hématologie. Chef de DER
7	Akory Ag	IKNANE	Professeur	Santé Publique/Nutrition
8	Kassoum	KAYENTAO	Directeur de recherche	Santé publ./ Bio-statistique
9	Ousmane	KOITA	Professeur	Biologie-Moléculaire
10	Issaka	SAGARA	Directeur de recherche	Bio-statistique
11	Boubacar	TRAORE	Professeur	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Djibril Mamadou	COULIBALY	Maître de conférences	Biochimie clinique
2	Djénéba Coumba	DABITAO	Maître de conférences	Biologie-moléculaire
3	Souleymane	DAMA	Maître de conférences	Parasitologie - Mycologie
4	Antoine	DARA	Maître de conférences	Biologie-moléculaire
5	Laurent	DEMBELE	Maître de conférences	Biotechnologie-Microbienne
6	Seydina S. A.	DIAKITE	Maître de conférences	Immunologie
7	Fatou	DIAWARA	Maître de conférences	Epidémiologie
8	Ibrehima	GUINDO	Maître de conférences	Bactériologie Virologie
9	Bourèma	KOURIBA	Maître de conférences	Immunologie
10	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Maître de recherche	Bactériologie-Virologie

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

11	Amadou Birama	NIANGALY	Maître de conférences	Parasitologie – Mycologie
12	Fanta	SANGO	Maître de conférences	Santé publ/Santé commun.
13	Yéya dit Sadio	SARRO	Maître de conférences	Epidémiologie
14	Mahamadou S.	SISSOKO	Maître de recherche	Bio-statistique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	GRADE	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Maître-Assistant	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Maître-Assistant	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Maître-Assistant	Biologie clinique
4	Seydou Sassou	COULIBALY	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
5	Kléligui Casimir	DEMBELE	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
6	Yaya	GOITA	Maître-Assistant	Biochimie Clinique
7	Aminatou	KONE	Maître-Assistant	Biologie moléculaire
8	Birama Apho	LY	Maître-Assistant	Santé publique
9	Dinkorma	OUOLOGUEM	Maître-Assistant	Biologie Cellulaire

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	GRADE	SPECIALITE
1	Cheick Amadou	COULIBALY	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
2	Michel Emmanuel	COULIBALY	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
3	Abdallah Amadou	DIALLO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
4	Bakary	FOFANA	Attaché de Recherche	Recherche clinique
5	Merepen dit Agnès	GUINDO	Assistant	Immunologie
6	Falaye	KEÏTA	Attaché de Recherche	Santé publ./Santé Environn.
7	N'Deyelallah Nina	KOITA	Assistant	Nutrition
8	Oumou	NIARE	Attaché de Recherche	Biologie appliquée
9	Lamine	SOUMAORO	Attaché de Recherche	Entomologie/parasitologie
10	Aliou	TRAORE	Attaché de Recherche	Sciences biologiques appliqué.
11	Djakaridia	TRAORE	Assistant	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUE

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Professeur	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Maitre de Conférences	Pharmacie hospitalière
2	Mahamane	H Aidara	Maitre de Conférences	Pharmacognosie

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Bakary Moussa	CISSE	Maitre-Assistant	Galénique
2	Issa	COULIBALY	Maitre-Assistant	Gestion
3	Balla Fatogoma	COULIBALY	Maitre-Assistant	Pharmacie hospitalière
4	Adama	DENOU	Maitre-Assistant	Pharmacognosie
5	Hamma Boubacar	MAÏGA	Maitre-Assistant	Galénique
6	Adiaratou	TOGOLA	Maitre-Assistant	Pharmacognosie
7	Aminata Tiéba	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Assistant	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Assistant	Pharmacognosie
3	Sékou	DOUMBIA	Assistant	Pharmacognosie
4	Assitan	KALOGA	Assistant	Législation
5	Ahmed	MAÏGA	Assistant	Législation
6	Aichata Ben Adam	MARIKO	Assistant	Galénique
7	Aboubacar	SANGHO	Assistant	Législation
8	Bourama	TRAORE	Assistant	Législation
9	Sylvestre	TRAORÉ	Assistant	Gestion pharmaceutique
10	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Assistant	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Professeur	Pharmacologie
2	Benoit Yaranga	KOUMARE	Professeur	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAÏGA	Professeur	Toxicologie

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Tidiane	DIALLO	Maitre de Conférences	Toxicologie
2	Hamadoun Abba	TOURE	Maitre de Conférences	Bromatologie Chef de DER

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Maitre-Assistant	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Maitre-Assistant	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Maitre-Assistant	Chimie thérapeutique
4	Madani	MARIKO	Maitre-Assistant	Chimie Analytique
5	Karim	TRAORE	Maître-Assistant	Pharmacologie

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Assistant	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Assistant	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOOU	Assistant	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Assistant	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Assistant	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Assistant	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Assistant	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Assistant	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
-	-	-	-	-

2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Maitre de Conférences	Chimie appliquée
2	Abdoulaye	KANTE	Maitre de Conférences	Anatomie
3	Boubacar	YALCOUYE	Maitre de Conférences	Chimie organique

3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Maitre-Assistant	Botanique-Biol. Végét Chef de DER
2	Joseph Sékou B.	DEMBELE	Maitre-Assistant	Biologie végétale
3	Boureima	KELLY	Maître-Assistant	Physiologie médicale

4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	Grade	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Assistant	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Assistant	Génétique
3	Moussa	KONE	Assistant	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Assistant	Biologie Entomologie

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Moussa I	DIARRA	Biophysique
6	Mahamoudou	KONE	Droit et éthique
7	Modibo	SANGARE	Anglais
8	Satigui	SIDIBÉ	Pharmacie vétérinaire
9	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
10	Fana	TANGARA	Mathématiques
10	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
12	Oumar	SAMASSEKOU	Génétique
11	Boubacar	ZIBÉIROU	Physique

Bamako, le 27 mai 2024


P/Le Doyen PO
Le Secrétaire Principal

Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Liste des Abréviations

° C : Degré Celsius
µm : Micromètre
A/E : Attachement-effacement
AAC : Aminoside-N-acétyltransférases
ADH : Ardinine dihydrolase
ADN : Acide désoxyribonucléique
AIDA : Adhesine involved in diffuse adherence
AK : Amikacine
AMC : Amoxicilline
AMP : Ampicilline
AMP+AC : Aminopénicilline + acide clavulanique
AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
API : Analytical Profile Index
ARN : Acide ribonucléique
ATCG : Adénine, Thymine, Cytosine, Guanine
AUG : Augmentin
BET : Bromure d'éthidium
BFP : Bundle Forming Pili
BL : Béta-Lactamine
BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Elargi
C : Chloramphénicol
C1G : Céphalosporine de première génération
C2G : Céphalosporine de deuxième génération
C3G : Céphalosporine de troisième génération
C4G : Céphalosporine de quatrième génération
CA- SFM : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ: Ceftazidime
CBN : Céphalosporinase de bas niveau
CFA: Colonization Factor Antigen
CHN : Céphalosporinase de haut niveau
CIP : Ciprofloxacine
CIT : Citrate de Simmons
CN : Gentamycine
CRO : Ceftriaxone
CS : Colistine
DAEC : Diffuse-adhering *Escherichia coli*
DNTP: Désoxyribonucléoside triphosphate
Dr : Docteur
E. coli : *Escherichia coli*
EAggEC : Enteroaggregative *Escherichia coli*
EAST : Enteroaggregative *E. coli* heat stable enterotoxin
ECAD : *Escherichia coli* adhésion diffuse
ECBU : Examen cytobactériologique des urines
ECET : *Escherichia coli* entérotoxigène
EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique
ERT : Ertapenem
ETEC : Enterotoxinogenic *Escherichia coli*
F : Nitrofurantoin

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

FEP : Céfépime
FOS : Fosfomycine
FOX : Céfoxitine
FQ : Fluoroquinolone
GD : Groupe dynamique
GEL : Gélatinase
GMPc : Guanosine monophosphate cyclique
GN : Gram négatif
H₂S : Sulfure d'hydrogène
IU : Infection Urinaire
I : Intermédiaire
IMI : Imipènème
INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
INSP : Institut National de Santé Publique
Kb : Kilobyte
Kda : Kilo dalton
LABIOKA : Laboratoire Bio Médicale de Kayes
LDC : Lysine décarboxylase
LEE : Locus of Enterocyte Effacement
LEV : Lévofloxacine
MgCl₂ : Chlorure de magnésium
ml: Millilitre
NIT : Nitrates
ODC : Ornithine décarboxylase
OFX: Ofloxacine
OMS: Organisation mondiale de la santé
ONPG: Orto-nitrophényl-bêta-D-galactopyranoside
OXA : Oxacilline
PBN : Pénicillinase de bas niveau
PBP : Penicillin Binding Protein
PCR : Polymerase chain reaction
PHN : Pénicillinase de haut niveau
PLP : Protéines liant la pénicilline
PRL : Piperacilline
Qnr : Quinolone résistance
R : Résistant
S : Sensible
SHU : Syndrome hémolytique et urémique
SHV: Sulfhydryl variable
SLT: Shiga like toxins
SXT: Triméthoprime-sulfamide ou Triméthoprime- sulfaméthoxazole
Taq: *Thermus aquaticus*
TBE: Tris-Borate-EDTA
TC : Ticarcilline
TDA : Tryptophane désaminase
TEM : Temoneira (nom du malade chez qui la première souche a été isolée)
TGC : Tigécycline
TOB : Tobramycine
TZP : Pipéracilline+ tazobactam
UV : Ultra-violet

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VIM : Verona integron-encoded metallo- β -lactamase

VP : Pyruvate de sodium

VT : Verotoxine

Zn : Zinc

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Liste des tableaux

Tableau I: classification et taxonomie de <i>Escherichia coli</i>	13
Tableau II: Détection phénotypique de la résistance aux bêtalactamines	40
Tableau III: Détection phénotypique de la résistance aux aminosides.....	40
Tableau IV: Détection phénotypique de la résistance aux quinolones	41
Tableau V: Les amorces utilisées pour la détection des gènes de résistance.....	53
Tableau VI: La reconstitution des amorces	53
Tableau VII: Protocole de préparation du mélange réactionnel du Master Mix	54
Tableau VIII: Programme d'amplification de la PCR conventionnelle.....	55
Tableau IX: les matériels utilisés	58
Tableau X: Liste des disques d'antibiotiques testés et leur charge selon le CASFM 2023	59
Tableau XI: Résistance des isolats de <i>E.coli</i> aux β -lactamines	62
Tableau XII: Résistance aux aminosides des isolats de <i>E.coli</i>	62
Tableau XIII: Résistance aux quinolones des isolats de <i>E.coli</i>	62
Tableau XIV: Résistance aux autres classes d'antibiotiques des isolats de <i>E.coli</i>	63
Tableau XV: Phénotypes de résistance aux β -lactamines des isolats de <i>E.coli</i>	63
Tableau XVI: Phénotype de résistance aux aminosides des isolats de <i>E.coli</i>	63
Tableau XVII: Phénotype de résistances aux quinolones des isolats de <i>E.coli</i>	64
Tableau XVIII : Gènes associés à la résistance aux bêtalactamines aux quinolones et aux aminosides	64
Tableau XIX: Répartition des gènes associés à la résistante aux β -lactamines.....	65
Tableau XX: Répartition des gènes associés à la résistante aux Quinolones	66
Tableau XXI: Gènes associés aux phénotypes de résistance aux β -lactamines	66
Tableau XXII: Gènes associés aux phénotypes de résistance aux quinolones.....	67

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Liste des Figures

Figure 1: Appareil urinaire chez l'homme et chez la femme	9
Figure 3: L'observation microscopique de Enterobacteriaceae.....	11
Figure 4: E. coli après coloration de Gram	14
Figure 5: Aspect des colonies de <i>Escherichia coli</i> sur milieu drigalski	15
Figure 6: Cycle biologique de <i>Escherichia coli</i>	23
Figure 7: Noyau β -lactame	27
Figure 8: Structures principales de différentes classes de β -lactamines	30
Figure 9: Structures principales des antibiotiques de la classes des Aminoglycosides.....	31
Figure 10: Structure principale da la colistine(polymyxine E)	33
Figure 11: Structure chimique de la tétracycline.....	34
Figure 12: Structure générale des Fluoroquinolones.....	36
Figure 13: Schéma des différents mécanismes de résistance aux antibiotiques	37
Figure 14: Laboratoire de bactériologie et virologie de l'INSP	44
Figure 15: Galerie biochimique API 20E	47
Figure 16: Automate VITEK®2 Compact	49
Figure 17: Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé selon Kirby Bauer.....	50
Figure 18: Répartition des patients infectés par <i>E. coli</i> selon le sexe.....	61
Figure 19: Répartition des patients infectés par λ selon la tranche d'âges	61
Figure 20: Résultat d'une PCR TEM	65

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

Table des matières

1	Introduction :	2
2	Généralités :	8
2.1	Infections urinaires :	8
2.2	Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire :	8
2.3	Formes cliniques :	9
2.3.1	Infection urinaire symptomatique :	9
2.3.2	Infection urinaire asymptomatique :(Colonisation urinaire) :	10
2.4	Les germes couramment isolés :	10
2.4.1	Les bacilles à Gram négatif non fermentaires :	10
2.4.2	Les cocci à Gram positif :	10
2.4.3	Les bacilles à Gram négatif fermentaires :	11
2.5	Les antibiotiques :	24
2.5.1	Historique :	24
2.5.2	Définition :	24
2.5.3	Mode d'action :	24
2.5.4	Classification des antibiotiques :	26
2.6	Résistance aux antibiotiques :	36
2.6.1	Notions de résistance bactérienne :	36
2.6.2	Les différents types de la résistance bactérienne	36
2.6.3	Mécanismes de résistance aux antibiotiques :	37
3	Méthodologie :	43
3.1	Lieu de l'étude :	43
3.1.1	Description de LABIOKA :	43
3.1.2	Description de l'INSP :	43
3.2	Type et période d'étude :	44
3.3	Population d'étude :	44
3.3.1	Critère d'inclusion :	44
3.3.2	Critère de non inclusion :	45
3.4	Taille de l'échantillon :	45
3.5	Technique de laboratoire :	45
3.6	Variables étudiées :	57
3.7	Outils de collectes et de saisie des données :	57
3.8	3.8 Aspect Ethique :	57
3.9	Matériels essentiels :	57

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

4	Résultats :	61
4.1	Données Sociodémographiques	61
4.2	Résistance aux antibiotiques :	62
4.3	Phénotype de résistances aux antibiotiques :	63
4.4	Présence de gène de résistance chez les isolats résistants :	64
4.5	Les gènes associés à la résistance aux antibiotiques :	65
4.6	Gènes associés aux phénotypes de résistance :	66
5	Discussion :	69
5.1	Données sociodémographiques :	69
5.2	Résistance aux antibiotiques des germes isolés:	69
5.2.1	Résistance aux Bêtalactamines des isolats :	69
5.2.2	Résistance aux aminosides des isolats :	70
5.2.3	Résistance aux quinolones des isolats :	70
5.2.4	Résistance aux autres antibiotiques des isolats :	70
5.3	Phénotypes de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>E. coli</i> :	71
5.3.1	Phénotypes de résistance aux β-lactamines des isolats de <i>E. coli</i>:	71
5.3.2	Phénotype de résistance aux aminosides des isolats de <i>E. coli</i> :	71
5.3.3	Phénotype de résistances aux quinolones des isolats de <i>E. coli</i> :	71
5.4	Gènes associés à la résistance aux antibiotiques des isolats de <i>E. coli</i>:	72
5.5	Présence de gènes associés à la résistance aux antibiotiques :	72
5.5.1	Présence de gènes associés à la résistante aux β-lactamines :	72
5.5.2	Présence de gènes associés à la résistante aux Quinolones :	72
6	Conclusion et recommandations :	74
6.1	Conclusion :	74
6.2	Recommandations :	75
7	Références	77

DEDICACES

Je dédie ce travail :

♣ A mon père Bréhima Timbely,

Merci papa d'avoir guidé mes pas et faire de moi la personne que je suis aujourd'hui. Père, tu m'as été d'un soutien incommensurable, sans ton éducation, ton courage et tes conseils, je ne serais certainement pas à ce niveau. Tu m'as toujours orienté vers le droit chemin, tu m'as inculqué le mérite, le travail bien fait et l'amour du prochain. Très cher père ce travail est le fruit de tes nombreux efforts.

♣ A ma mère Ramata Soyba,

Femme battante, intègre et dotée d'une grande gentillesse, merci maman pour tous ces sacrifices consentis pour mon épanouissement. Tu m'as toujours soutenu dans mes projets, tu as employé des grands moyens pour mon éducation, tu as toujours veillé à ce que je ne manque de rien, tu m'as donné plus qu'une mère peut offrir à son fils, merci maman pour ton amour inconditionnel. Puisse le tout puissant t'accorder une longue vie pour que tu puisses bénéficier des fruits de tes efforts.

♣ A mon oncle, Ichiaka Pamateck

Merci oncle pour ton amour, j'ai toujours bénéficié de ton soutien. Les conseils et encouragements que tu m'as prodigués prouvent juste le genre de personne exceptionnelle que tu es. Je voudrais t'exprimer toute ma profonde gratitude. Qu'ALLAH le tout puissant t'accorde une longue vie garnie de bonheur.

♣ A mes frères et sœurs Amadou, Awa, Souleymane, Fatoumata, Djéneba, Ousmane, Oumou et Tidiane Timbely,

Je vous porte tous très fort dans mon cœur, merci pour vos encouragements. Qu'ALLAH vous bénisse et vous protège.

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

REMERCIEMENTS

Je rends grâce :

♣ **A ALLAH** Le tout miséricordieux, le très miséricordieux, le créateur des cieux et de la terre de m'avoir assisté, de m'avoir donné le courage et la santé de terminer ce travail.

♣ **Au Prophète Mohamed** (paix et salut sur lui)

Je tiens à remercier :

♣ **Mes tontons Soumaila Timbely, Madou, Bourama et lieutenant Fousseyni Soyba,**

Vos soutiens et conseils, ont été pour moi une source d'énergie et de motivation pour me persévérer dans mes études. Je prie Dieu, qu'il vous donne une longue vie.

♣ **Mes tantes Alima Tembely, Kadidia Maiga, Anta Kassogué, Djéneba Soyba, Bozo Soyba,**

Votre amour, vos conseils et bénédictions m'ont toujours accompagné durant ces années d'études. Merci pour tout

♣ **Aux familles Tebsougué et Soyba du point G,**

Merci pour votre accompagnement, vous m'avez toujours soutenu et encouragé. Merci pour votre protection.

♣ **A tonton Zerbo, tonton Adrian, tanti Adam Ganaba, Seni Bengaly, Oumar Samaké tonton Djila, Moussa Sangaré, Noumou Y Keita**

Merci pour vos sages conseils votre disponibilité et tout le soutien que vous m'avez apporté tout au long de mes études

♣ **A mes grands frères Dr Youssouf Timbiné et MDL chef Boureima Tiemoko Togo**

Merci pour vos bienfaits, conseils et bénédictions. Qu'ALLAH vous accorde une longue vie

♣ **A tout le personnel du laboratoire de bactériologie virologie de l'INSP**

Ce fut un énorme plaisir d'apprendre et de travailler à vos côtés, Merci pour votre sympathie.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Mentions spéciales aux **Dr Marcel Klema Koné, Dr Balla Moussa Konté, Dr Mise Sogoba Dr Diallo Mahamadou Abdou et Mr Demba Koita**

Merci pour vos conseils, votre disponibilité pour la réussite de ce travail.

♣ A mes amis du GD family et du groupe Meet

Dr Mise Sogoba, Dr Mahamadou Traoré, Dr N'faly Tounkara, Dr Emmanuel Z. Malla, Dr Balla Moussa Konté, Dr Mariam Coulibaly, Dr Samuel Yagala Diarra, Dr Aminata Amplima Sagara, Dr Awa Thiéro, Mme Naba Magassa, Dr Maimouna Traore, Abdoul Aziz Bagayoko,

Merci pour votre fraternité et les bons moments passés ensemble.

♣ A l'état-major les Bâtisseurs : Ma famille d'accueil merci pour la formation que tu m'as accordée

♣ A mes aînés docteurs, mes camarades de la 14^{ème} promotion du numérus clausus section pharmacie (Promotion Feu Professeur Drissa Diallo),

Ce fut un plaisir pour moi de partager ces années avec vous. Que le bon Dieu guide notre suite.

♣ A tout le personnel de la pharmacie AICHA KAREMBE

**Hommages aux
membres du jury**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

A notre Maître et Président du jury,

Professeur Issa KONATE

- + Médecin spécialiste de Maladies infectieuses et tropicales ;**
- + Diplôme inter-universitaire d'antibiologie et d'antibiothérapie en Afrique subsaharienne ;**
- + Professeur titulaire à la FMOS de l'USTTB ;**
- + Praticien hospitalier au CHU du point G ;**
- + Secrétaire administratif de la SOMAPIT.**
- + Membre de la Société Africaine de Pathologie Infectieuse(SAPI) ;**
- + Membre de la cellule assurance qualité de l'USTTB ;**
- + Membre du groupe de Coordination Multisectoriel de lutte contre les résistances aux antimicrobiens**
- + Investigateur clinique à l'UCRC.**

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines tout au long de notre formation.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Ibrehima GUINDO

- + Directeur de l'Institut National de Santé Publique (INSP),**
- + Pharmacien Microbiologiste**
- + Maître de conférences agrégé de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie**
- + Point focal national de la Résistance Anti Microbien (RAM)**
- + Membre du groupe de Coordination Multisectoriel de lutte contre les résistances aux antimicrobiens**

Cher Maître,

Vous avez été d'un apport indispensable à ce travail par non seulement vos qualités scientifiques mais aussi par votre soutien pour l'amélioration de la qualité du document. Votre courtoisie, votre humilité, votre sens du travail bien fait font de vous une référence.

Recevez ici nos sincères remerciements et profondes gratitudes envers votre personne.

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

A notre Maître et juge

Dr Mohamed AG BARAIKA

✚ Pharmacien Microbiologiste,

✚ Maître Assistant en Bactériologie-Virologie à la faculté de pharmacie,

Cher Maître,

Vous avez suivi pas à pas ce travail, prompt à répondre à toutes nos préoccupations et nous guider à chaque étape de sa réalisation. Lentement, sûrement mais surtout avec rigueur, vous n'avez ménagé aucun effort pour faire de cette thèse ce qu'elle est aujourd'hui. Veuillez recevoir toute notre gratitude.

Puisse le tout puissant ALLAH vous assister dans vos projets et vous donne longue vie.

Amen !

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

A notre Maître et juge

Professeur Yacouba CISSOKO

- ✚ Maître de conférences de Maladies infectieuses et tropicales à la FMOS de l'USTTB;**
- ✚ Praticien hospitalier au CHU du Point G**
- ✚ Secrétaire général de la Société Malienne de Pathologies Infectieuses et Tropicales (SOMAPIT);**

Cher Maître,

C'est un honneur pour nous d'avoir appris à vos côtés, de vous compter parmi les membres du jury afin de juger ce travail, et de profiter de votre rigueur scientifique et de la valeur de vos connaissances. Votre compétence, votre disponibilité et votre engagement pour un travail bien fait, forcent l'admiration et le respect

Recevez cher maître l'expression de notre reconnaissance

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

A notre Maître et juge

DR Mahamadou ABDOU

- + Pharmacien microbiologiste, Attaché de recherche**
- + Chef de service Bactériologie-virologie de l'INSP**
- + Diplôme inter-universitaire d'antibiologie et d'antibiothérapie en Afrique subsaharienne**
- + Membre du groupe de coordination multisectoriel de lutte contre la RAM au Mali**
- + Membre de l'association Africaine pour le contrôle et la lutte contre la RAM(AARAM)**
- + Membre du Réseau de lutte contre la Méningite en Afrique (MenAfrinet)**
- + Investigateur**

Cher Maître,

Vous nous avez appris les préceptes de la science médicale en générale et celui de la biologie en particulier. Nous avons apprécié en vous en plus de vos qualités scientifiques remarquables, votre modestie et votre rigueur. Nous vous remercions infiniment de votre franche collaboration et d'avoir accepté de juger ce travail. Merci de nous avoir accordé une partie de votre temps et cela malgré vos multiples taches.

Nous vous serons reconnaissant et que DIEU vous le rende en bien.

Introduction

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

1 Introduction :

Les infections du tractus urinaire (IU) correspondent à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs micro-organismes générant une réponse inflammatoire et des symptômes de nature et d'intensité variable selon le terrain [1].

Les infections liées à *Escherichia coli* demeurent un problème, surtout dans les pays en voie de développement où la couverture sanitaire est faible. Elles représentent une préoccupation du fait de leur diversité, du nombre de patients touchés et d'une augmentation de la résistance acquise à certaines classes d'antibiotiques [2].

La transmission possible de *E. coli* virulent et/ou résistant entre les animaux et les humains par de nombreuses voies, telles que le contact direct, le contact avec les excréments des animaux ou la chaîne alimentaire, est une préoccupation majeure. *E. coli* représente également un réservoir important de gènes de résistance qui peuvent être responsables de l'échec des traitements en médecine humaine et vétérinaire. Un nombre croissant de gènes de résistance ont été identifiés dans les isolats de *E. coli* au cours des dernières décennies, et bon nombre de ces gènes de résistance ont été acquis par transfert horizontal de gènes [3].

Les fluoroquinolones (FQ) et les β -lactamines (BL) sont des molécules de choix pour traiter l'infection du tractus urinaire dont *E. coli* était impliqué dans 57% de cas. Leur introduction en thérapeutique a été rapidement suivie par la description des mécanismes de résistance [4].

L'infection du tractus urinaire constitue un véritable enjeu majeur de santé publique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections urinaires à *Escherichia coli* (*E. coli*) sont de loin les plus fréquentes au sein de l'hôpital et de la communauté causant 40 à 70% des cas selon une étude au Cameroun en 2014[5,6].

Le problème de l'émergence et de la propagation des résistances est encore pire dans les pays où les antibiotiques sont délivrés sans ordonnance à l'homme ou l'animal. De même, dans les pays dépourvus de guides thérapeutiques normalisés, les antibiotiques sont prescrits de manière excessive par les agents de santé et surconsommés par le grand public [7].

Le diagnostic de l'infection urinaire repose sur l'examen cyto bactériologique des urines qui imposent des conditions rigoureuses de prélèvement, de conservation et de réalisation. Il met en évidence la présence d'une leucocyturie et d'une bactériurie significative.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Une enquête menée dans 228 hôpitaux de 29 pays européens, fait ressortir la hiérarchie suivante : *Escherichia coli* (38%), *Candida* (10%), *Pseudomonas aeruginosa* (7%), *Enterobacter* (4%), *Acinetobacter* (2%) [8].

Selon une étude menée en 2019 sur l'écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc, *Escherichia coli* était le germe le plus isolé avec 39 % suivi de *Klebsiella pneumoniae* (21 %).[9]

Au Mali selon une étude menée par **Mariko et coll** en 2021, parmi les bacilles Gram négatif (B-), *E. coli* était le germe le plus fréquent avec 54,3% des cas (10).

Dans les infections associées aux soins urinaires, la flore bactérienne reste dominée par *E. coli* et *P. aeruginosa* [11].

Dans le service de réanimation de l'Hôpital Gabriel Touré, une étude antérieure a montré que l'infection urinaire associée aux soins représente 72,7 % de l'ensemble des infections associées aux soins. *E. coli* a été le germe le plus identifié dans 55,6 % de ces infections à l'examen cyto bactériologique des urines(ECBU) [12].

Notre travail avait pour but d'évaluer le niveau de résistance de *E. coli* aux antibiotiques par détermination phénotypique et la recherche des gènes associés à la résistance aux différentes familles d'antibiotiques.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Question de recherche :

Quels sont les phénotypes de résistance des isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes ?

Quels sont les gènes associés à la résistance des isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes ?

Hypothèse 1 :

Les isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes possèdent des phénotypes de résistances

Hypothèse 2 :

Les isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes possèdent des gènes associés à la résistance

Objectifs

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Objectifs :

Objectif général :

Etudier le profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes.

Objectifs spécifiques :

- ✓ Décrire les caractères socio-démographiques des patients porteurs d'infection urinaire à *E. coli* isolé au laboratoire biomédical de Kayes,
- ✓ Déterminer les phénotypes de résistance aux différentes familles d'antibiotiques des isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes,
- ✓ Identifier les gènes associés à la résistance aux différentes familles d'antibiotiques des isolats urinaires de *E. coli* au laboratoire biomédical de Kayes .

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

Généralités

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2 Généralités :

2.1 Infections urinaires :

Les infections du tractus urinaire regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ces annexes. Leur point commun est la présence des bactéries dans le tractus urinaire. Ainsi on distingue, la cystite, la pyélonéphrite, la bactériurie asymptomatique, la prostatite, l'urétrite ... [13].

2.2 Anatomie et physiologie de l'appareil urinaire :

✓ Définition de l'appareil urinaire :

L'appareil urinaire est partagé essentiellement en deux parties :

Le haut appareil urinaire qui comprend : les deux reins (qui fabriquent l'urine) et les deux uretères.

Le bas appareil urinaire qui comprend : la vessie (réservoir des urines), l'urètre (canal situé sous la vessie qui permet l'évacuation des urines), et la prostate (glande située autour de l'urètre de l'homme) [14].

✓ Anatomie :[15]

Les reins : c'est un organe pair, volumineux ayant la forme d'un haricot. Situés à droite et à gauche des premières vertèbres lombaires, derrière le péritoine, leur poids varie entre 130 et 140 grammes et leur taille entre 10 et 12 centimètres de hauteur.

Les Uretères : ce sont deux conduits musculo-membraneux de 25cm environ. Ils s'étendent de la jonction rénale au niveau du bassinnet à la jonction vésicale.

La Vessie : c'est un réservoir musculo-membraneux où s'accumule l'urine entre l'intervalle de deux mictions.

L'urètre : c'est un conduit long de 16 cm chez l'homme et de 3 cm chez la femme, qui s'étend du col de la vessie à l'extrémité libre du pénis ou à la vulve. Chez les femmes, il y a très peu de pathologies urétrales car l'urètre est très court.

✓ Physiologie de l'appareil urinaire : [15]

Les reins ont deux fonctions :

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- Une fonction exocrine : Elle permet la filtration des déchets sanguins et la formation des urines.
- Une fonction endocrine : C'est la sécrétion hormonale, l'équilibre hydro-électrolytique et l'équilibre acido-basique.

Les uretères jouent la fonction de drainage des urines des reins à la vessie. La vessie assure le stockage puis d'excrétion des urines. La prostate sécrète le liquide prostatique. L'urètre a une double fonction : la conduction des urines et le drainage du sperme

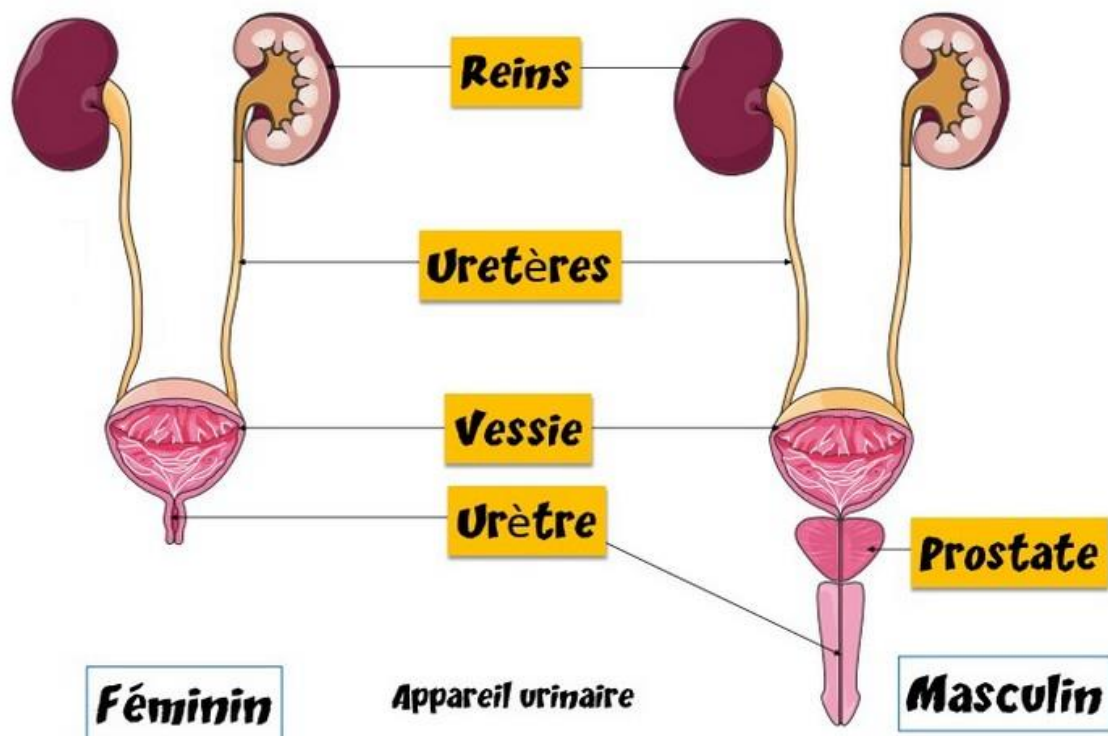


Figure 1:Appareil urinaire chez l'homme et chez la femme(16)

2.3 Formes cliniques :

2.3.1 Infection urinaire symptomatique :

Ce type d'infection survient plus fréquemment chez la femme que chez l'homme. Selon des données épidémiologiques, 40 à 50% des femmes ont au moins une IU au cours de leur existence.

Chez la femme, la fréquence augmente avec l'âge, avec deux pics, l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre en période post ménopausique. Chez l'homme, la fréquence augmente après 50 ans, en relation notamment avec la pathologie prostatique [17]

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.3.2 Infection urinaire asymptomatique :(Colonisation urinaire) :

La prévalence de la colonisation urinaire varie en fonction du sexe, de l'âge et de l'existence ou non d'une anomalie urologique sous-jacente. Chez la femme, la prévalence augmente avec l'activité sexuelle et avec l'âge (1 à 5 % chez la femme jeune contre 20 à 50 % après 80 ans). Elle est plus élevée chez les diabétiques (8 à 14 %). Par contre, la grossesse ne semble pas augmenter la fréquence de la colonisation urinaire. Chez l'homme jeune, la colonisation urinaire est exceptionnelle. La prévalence augmente après 6 ans. Dans les deux sexes, la prévalence est plus élevée chez les personnes âgées vivant en institution (15 à 50 % des personnes) [17].

2.4 Les germes couramment isolés :

2.4.1 Les bacilles à Gram négatif non fermentaires :[18]

Pseudomonas : Ce sont des bacilles mobiles, aérobies, stricts, ne fermentent pas le glucose ce qui les différencie des Entérobactéries, possédant une oxydase. La bactérie la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier est *Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique. C'est un germe opportuniste. Il donne des colonies légèrement bleutées, plates à surface irrégulière de 2 à 4 mm de diamètre ; il possède des antigènes O et H.

2.4.2 Les cocci à Gram positif :

Staphylocoques : Ce sont des cocci à Gram positif qui se présentent en petits amas, en diplocoque, en tétrade ou en très courtes chaînettes de 0,8 à 1 micromètre, immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, poussent facilement sur milieu ordinaire.

La température optimale de croissance est de 37°C. Possédant une catalase, ils sont les commensaux de la peau et des muqueuses. Les *Staphylocoques* se divisent en deux groupes :

- Les *Staphylocoques* à coagulase négative qui sont *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*,
- *Staphylococcus aureus* responsable le plus souvent d'infections hospitalières.

Streptocoques : Ce sont des cocci à gram positif, ovoïdes, groupés en chaînettes, immobiles non sporulés, aérobies anaérobies facultatifs, ne possédant pas de catalase, ne réduisent pas les nitrates, possèdent une capsule, ont un antigène spécifique de groupe appelé antigène C ou polyside C utilisé dans le schéma de LANCEFIELD pour la classification des *streptocoques* en séro groupe. Certains *streptocoques* ne possèdent pas de polyside C et sont non groupables.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Les *streptocoques* préfèrent les milieux enrichis pour leur culture. Dans les infections urinaires, on peut rencontrer : le *Streptocoque* bêta-hémolytique du groupe B, les *Streptocoques* D et les *Streptocoques* non groupable.

2.4.3 Les bacilles à Gram négatif fermentaires :

- **Entérobactéries** :[1]

La famille des *Enterobacteriaceae* est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques communs :

- ✓ Bacilles ou coccobacilles à Gram négatif (2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large) ;
- ✓ Mobiles avec une ciliature péritriche ou immobiles ;
- ✓ Non exigeants poussant sur milieux de culture ordinaires ;
- ✓ Aérobie - anaérobie facultatif ;
- ✓ Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz ;
- ✓ Nitrate réductase positive (réduisant les nitrates en nitrites) ;
- ✓ Oxydase négative ;
- ✓ Catalase positive sauf *Shigelles dysenteriae* type 1
- ✓ Non sporulés.

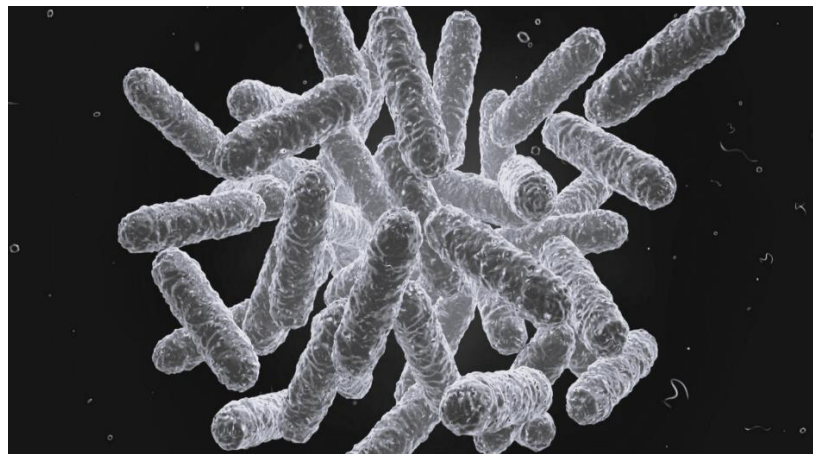


Figure 2: L'observation microscopique de *Enterobacteriaceae*[19]

- ***Escherichia coli* :**
- **Definition :** [20]

Escherichia coli est un bacille Gram négatif de l'intestin et de l'environnement humain ou animal (tube digestif). Il est responsable d'infections spontanées des voies urinaires et de gastro-entérites, il est aussi responsable d'infections nosocomiales. C'est la bactérie

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

pathogène la plus fréquemment retrouvée. Il a une tendance vers l'acquisition de résistance aux antibiotiques et est l'espèce type du groupe des *Enterobacteriaceae* ou Entérobactéries.

- Historique : [21,22]

En 1885, ESCHERICH décrivait *Bacterium coli* commune, un microorganisme commensal du colon. En 1895, ce même auteur retrouva cette bactérie dans les cas d'infection urinaire. Le nom *Escherichia coli* fut proposé par CASTELLANI et CHALMERS en 1919. Théodore ESCHERICH, en observant la fréquence des diarrhées néonatales, s'était posé la question de l'implication du colibacille dans les entérites. Après la seconde guerre mondiale, les connaissances ont convergé pour établir le concept de virulence de certains isolats de *Escherichia coli*. Dans les années 1950, de nombreuses souches de *Escherichia coli* ont été incriminées en tant qu'agent étiologique des diarrhées infantiles. Maintenant certaines souches « spécialisées » de *Escherichia coli* sont associées à des pathologies très diverses (y compris extra intestinales), tant chez l'homme que chez l'animal : diarrhées, gastro-entérites, infection du tractus urinaire, méningite, septicémies, le syndrome hémolytique et urémique etc. Ainsi depuis les années 1950, les bactériologistes ont essayé, grâce aux différences antigéniques de *Escherichia coli* de subdiviser l'espèce en sérotypes, en immunisant les lapins avec des antigènes somatiques et flagellaires.

Escherichia coli, visé par le spectre d'activité des fluoroquinolones, est responsable de la plupart des infections urinaires dont la prévalence est très élevée. Il représente le microorganisme le plus fréquemment isolé au cours des infections nosocomiales. L'émergence de la résistance de *Escherichia coli* aux fluoroquinolones a commencé dès le début des années 1990.

- Classification et taxonomie :[23]

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* dans le règne des procaryotes. Le genre comprend cinq espèces. Il s'agit de : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. De plus, selon les critères modernes de taxonomie bactérienne, les genres *Shigella* et *Escherichia* sont identiques. La classification de l'espèce se présente comme suit :

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Règne : *Procarvotae* Domaine : *Bacteria* Phylum : *Proteobacteria* Classe : *Gammaproteobacteria* Ordre : *Enterobacteriales* Famille : *Enterobacteriaceae* Tribu : *Escherichiae* Genre : *Escherichia* Espèce : *Escherichia-coli*

Tableau I: classification et taxonomie d'*Escherichia coli*

Rangs taxonomique	Classification
Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

- Caractères bactériologiques:

Morphologie:

Escherichia coli est une bactérie droite en forme de bâtonnet (bacille) avec une taille d'environ 1 à 3 µm × 0,4 à 0,7 µm (micromètre), disposé seul ou par paires et mobile. Certaines souches de *E. coli* ne sont pas mobiles, flagellées avec un arrangement de flagelles pédiatriques et non sporulée.

Les capsules sont présentes chez certaines souches de *E. coli* qui peuvent facilement être démontrées en utilisant une préparation d'encre de Chine, apparaissent comme un halo clair dans un fond sombre. [24]

Coloration de Gram:

La coloration de Gram est l'une des techniques de coloration les plus cruciales en microbiologie. Il tire son nom du bactériologiste danois Hans Christian Gram, qui l'a introduit pour la première fois en 1882.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

La première étape de la coloration de Gram est l'utilisation d'un colorant violet cristallin pour la coloration initiale de la lame. L'étape suivante, également connue sous le nom de fixation du colorant, consiste à utiliser de l'iode pour former un complexe cristallin violet-iode afin d'empêcher l'élimination facile du colorant. Par la suite, un décolorant, souvent un solvant d'éthanol et d'acétone, est utilisé pour éliminer le colorant. Le principe de base de la coloration de Gram implique la capacité de la paroi cellulaire bactérienne à retenir le colorant violet cristallin pendant le traitement au solvant. Les micro-organismes à Gram positif ont une teneur plus élevée en peptidoglycane, tandis que les micro-organismes à Gram négatif ont une teneur en lipides plus élevée.

En fin de coloration les Gram négatifs perdent la coloration primaire et se colorant en rouge rose. En revanche, le solvant déshydrate les parois cellulaires à Gram positif en fermant les pores, empêchant la diffusion du complexe violet-iode, et ainsi, les bactéries restent colorées (couleur violette). [25]

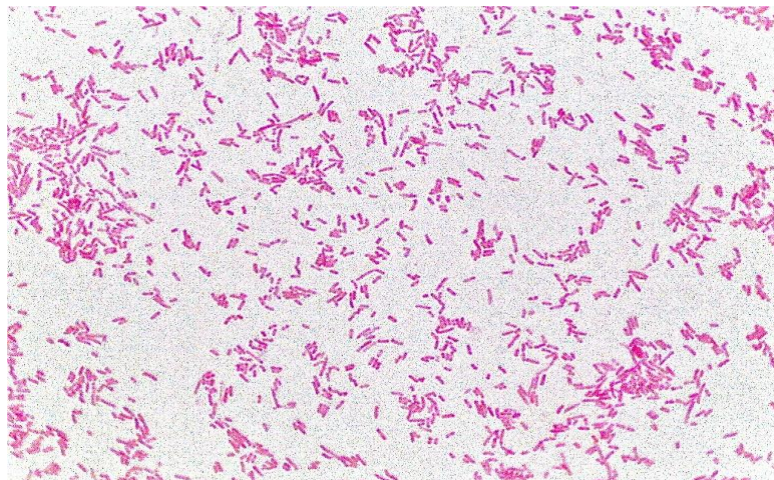


Figure 3: *E. coli* après coloration de Gram [26]

Caractères culturaux :

E. coli se développe sur les milieux gélosés en 24 heures à 37°C en donnant des colonies rondes dont le diamètre est de 2 à 3 mm, à bords réguliers, lisses et non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur Mac Conkey Les colonies de *E. coli* Lactose-positif, sont de couleur rose à rouge, plates, sèches et de 2 à 3 mm de diamètre, elles sont généralement entourées d'une zone rose plus foncée des sels biliaries précipités. Les colonies de *E. coli* Lactose-négatif produisent des colonies incolores sur Mac Conkey. [27]

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

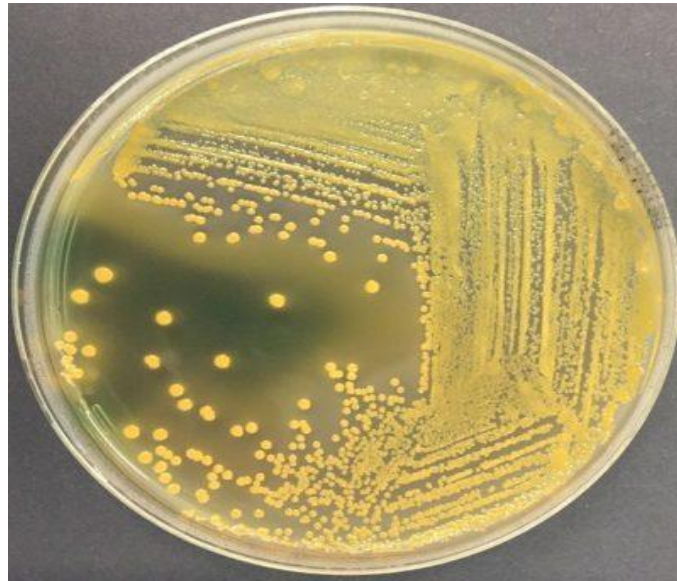


Figure 4: Aspect des colonies de *Escherichia coli* sur milieu drigalski[28]

Caractères biochimiques : [29]

E. coli possède les caractères biochimiques suivants :

- Oxydase (-), catalase (+), urée (+/-), nitrate réductase (+), gélatinase (-), TDA (+) ;
- Glucose (+), lactose (+), mannitol (+), sorbitol (+), Gaz en glucose (+) ;
- ONPG (+), H₂S (-), indole (+), citrate de Simmons (-), VP (-), RM (+) ;
- LDC variable (90% +), ODC (+/-), ADH (+/-).

Caractères antigéniques :[30]

L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à Gram négatif. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle (ciliature péritriche) permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène K de surface n'est pas toujours présent mais s'il existe, il bloque l'agglutinabilité de l'antigène O.

- **Antigène somatique O :**

Il existe plus de 150 antigènes somatiques. Ils sont composés de lipopolysaccharides complexes. Actuellement, certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le sérotype. Mais cette technique est limitée par le nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutinations croisées d'antigènes O de *E coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le message de la consistance

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

crémeuse de la colonie à une consistance rigoureuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O.

- **Antigène flagellaire H :**

Les antigènes H ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un grand intérêt du point de vue épidémiologique : l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit d'une même souche.

- **Antigène de surface ou d'enveloppe K :**

Il existe 3 types de l'antigène K désignés par les lettres L, A ou B. L'antigène L est le plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Donc le chauffage provoque une perte de pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O. L'antigène A est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires).

- **Epidémiologie:**

Habitat :[31]

E. coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme). L'appellation commune « Colibacille » est une contraction de « bacille du côlon » rappelant son caractère de bactérie commensale du tube digestif. Il peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers.

E. coli est d'origine fécale humaine ou animale, car il n'existe pas dans l'environnement naturel ; il peut cependant survivre quelques mois dans l'eau, le sol ou sur les plantes, bien qu'il se multiplie rarement dans ces milieux, à moins que des conditions de température élevée et la présence de nutriments le permettent. Sa détection dans l'eau doit donc être considérée comme reflétant la présence possible de micro-organismes pathogènes d'origine fécale ou entérique.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Mode de transmission :[32]

Les quatre principales voies de transmission de *E. coli* sont : la transmission interhumaine, la transmission hydrique, la transmission alimentaire, la transmission par contact direct avec les animaux de fermes et leur environnement.

- **Transmission interhumaine :**

Ce mode de transmission est responsable de l'extension de l'infection au sein des familles et des hôpitaux. La durée de portage serait en moyenne de 13 jours lors de colite hémorragique et de 31 jours lors de SHU. Cette transmission est d'autant plus importante lorsque l'hygiène est mauvaise et que les contacts sont étroits. La transmission oro-fécale est une réelle préoccupation dans les centres journaliers, les crèches et dans les centres psychiatriques.

- **Transmission hydrique :**

La bactérie peut contaminer l'eau lorsque des excréments de personnes ou d'animaux infectés, incluant les porteurs, entrent dans l'approvisionnement en eau. Généralement les épidémies d'origine hydrique sont associées à la consommation d'eau de boisson ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades. Entre 1997 et 2004, le système de surveillance des Etats-Unis rapportait que 6% des épidémies d'origine hydrique étaient liées aux EHEC contre 3% au Royaume-Unis après contact avec des légumes crus contaminés.

- **Transmission alimentaire :**

La contamination des aliments par *E. coli* peut se faire de nombreuses façons quelques une des plus communes comprennent.

- Pendant la transmission de viande crue, la viande de bœuf constitue la source majeure de contamination suite principalement à une cuisson insuffisante, la viande d'autres animaux de boucherie ou de volailles a également été mise en cause.

- Pendant la production et la récolte de fruits et de légumes : si le produit entre en contact avec de l'eau fumier contaminés.

- Lorsqu'un aliment est manipulé par une personne infectée par *E. coli*.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- Lorsque des aliments crus sont manipulés de façon inadéquate, ce qui peut mener à une contamination croisée.

- **Transmission par contact direct avec les animaux de ferme et leur environnement :**

La transmission de *E. coli* à l'homme se fait par contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections. Le taux de porteurs sains à *E. coli* est plus élevé dans les populations vivantes en contact permanent avec les animaux par exemple, chez les éleveurs anglais, la séroprévalence à *E. coli* varie de 1,6% à 5%. En Ecosse, du sol souillé a été impliqué dans 11% des infections environnementales à *E. coli*.

- **Pouvoir pathogène:**

Le pouvoir pathogène chez l'homme de *E. coli* est à la fois très important et varié. Il est responsable d'infections intestinales et d'infections extra-intestinales : infections de l'arbre urinaire, suppurations diverses, méningites et septicémies. Les souches pathogènes possèdent des propriétés (facteurs de colonisation, toxines...) spécifiques qui permettent de les regrouper dans des « pathovars » (variétés pathogènes). Chaque pathovar est associé à un syndrome infectieux caractéristique. Il en résulte que dans certains types d'infections (infections intestinales par exemple), l'identification d'une souche à l'espèce *E. coli* n'est pas suffisante pour caractériser ce syndrome et pour apprécier la responsabilité de la souche. Elle doit être complétée par celle du pathovar auquel la souche appartient [31].

- **Infections extra-intestinales :**

- **Infection urinaire :**

L'infection urinaire est une pathologie fréquente. *E. coli* est la principale espèce bactérienne impliquée dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite). L'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer en prostatite. *E. coli* est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

➤ Infection néonatale :

Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie. L'examen de 77 souches d'*Escherichia coli* provenant du liquide céphalo-rachidien de nouveau-nés atteints de méningite a révélé 65 (84%) avec le polysaccharide capsulaire (K1). Il a été démontré que l'antigène capsulaire K1 de *E. coli* était immunochimiquement identique au polysaccharide méningococcique du groupe B (33).

➤ Infections diverses :

E. coli est impliqué dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire : suppurations localisées ou septicémies. Il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales.

○ Infections intestinales :

E. coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique [34].

Les souches de *E. coli* responsables d'infections intestinales, appelées aussi « *E. coli* entérovirulents » sont capables de coloniser la muqueuse digestive en détruisant les entérocytes et de produire des toxines actives sur les cellules intestinales. Elles sont actuellement classées en 6 pathovars.

***E. coli* entéropathogène (EPEC, « Enteropathogenic *E. coli* » ou ECEP) :**

Les EPEC, responsables dans le passé d'infections infantiles graves de répartition mondiale, restent encore une cause importante de diarrhée infantile dans les grandes concentrations urbaines des pays en voie de développement. Ainsi à Sao Paulo, ils étaient responsables, d'après une étude effectuée en 1985, de près de 30% des diarrhées infantiles (enfant de moins de 6 ans).

L'infection par les EPEC est caractérisée par son apparition brusque et l'émission de selles aqueuses contenant du mucus mais dans lesquelles les leucocytes et le sang sont absents. Elle s'accompagne fréquemment de fièvre, malaises et vomissements surtout chez l'enfant dans la tranche d'âge de 6 mois à 18 mois. Le mécanisme du pouvoir pathogène des EPEC comporte

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

deux volets : l'adhésion aux entérocytes de l'intestin grêle et la capacité de produire des lésions histopathologiques au niveau de la bordure en brosse des entérocytes. Le phénomène d'adhésion est précoce. Les bactéries forment des micro colonies à la surface des cellules en culture dans lesquelles elles sont reliées entre elles et à la cellule par des fimbriae appelés BFP (« Bundle Forming Pili »). Ainsi est constitué un phénotype d'adhésion de type localisé (phénotype LA) caractéristique des EPEC. Cette étape d'attachement est suivie d'une destruction des microvillosités de la bordure en bosse de l'entérocyte et d'une modification de la membrane cellulaire qui forme une zone de contact étroite avec la bactérie au niveau de laquelle se forme une condensation d'actine ; ce phénomène est décrit sous le terme d'attachement-effacement (A/E). La lésion histopathologique formée s'observe aussi bien in vitro sur des cellules en culture qu'in vivo au niveau de l'intestin d'enfants ou d'animaux infectés. Elle est sous dépendance d'un gène chromosomique appelé eae A (« *E. coli* attaching and effacing ») qui code pour une protéine de 14 Kda appelée intimine. L'ensemble des gènes nécessaires à l'expression du phénomène d'attachement-effacement est regroupé dans un même locus chromosomique de 35 kb, appelé LEE (« Locus of Enterocyte Effacement ») [35].

***E. coli* entérotoxigène (ETEC, « Enterotoxinogenic *E. coli* » ou ECET) :**

Les ETEC sont fréquemment responsable de la « diarrhée du voyageur » et constituent la principale cause de diarrhée infantile dans les pays en voie de développement où la plupart des enfants présentent 2 à 3 infections à ETEC par an [32]. Ils sont à l'inverse rarement incriminés dans les pays industrialisés. L'infection est réalisée par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminée et se manifeste après colonisation du tube digestif par des phénomènes de diarrhée liquidienne aigue, crampes abdominales, nausées et par une fièvre légère.

Le pouvoir pathogène des ETEC est dû à leur capacité de coloniser les entérocytes de l'intestin grêle et de sécréter des toxines cytotoxiques (entérotoxines) entraînant une fuite d'eau et d'électrolytes en agissant localement sur les cellules intestinales [31].

Les facteurs d'adhésion des ETEC sont des filaments protéiniques rigides d'une longueur variante entre 20 et 200 nanomètres et d'un diamètre de 7 nanomètres. Ils confèrent à la bactérie un pouvoir d'adhésion spécifique (les souches humaines ne peuvent adhérer qu'aux entérocytes d'origine humaine). Une dizaine de facteurs d'adhésion appelés CFA («

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

colonization Factor Antigen ») et confèrent généralement aux bactéries des propriétés hémagglutinantes.

Les entérotoxines produites par les ETEC sont de deux types. D'une part, il s'agit d'une toxine thermolabile (entérotoxine LT) dont la structure complexe et les propriétés sont très voisines de celle de la toxine cholérique. D'autre part il s'agit de l'entérotoxine thermolabile (ST) constituée de 19 résidus aminés dans sa forme mature. Elles ont un effet cytotonique qui se traduit par l'augmentation de la production intra-entérocytaires de deux principaux seconds messagers intracellulaires (AMPc et GMPc) qui contrôle la sécrétion ionique.

***E. coli* entéroinvasif (EIEC, « Enteroïnvasive *E. coli* » ou ECEI) :**

Les EIEC sont pathogènes pour les enfants et les adultes. Ils sont responsables d'un syndrome dysentérique analogue à celui provoqué par les *Shigelles* (dont ils sont d'ailleurs très proches sur le plan taxonomique), caractérisé par la fièvre et une diarrhée sanglante et purulente. L'incidence des infections dues à des EIEC paraît faible, peut-être en raison des difficultés rencontrées pour les identifier et de la confusion possible avec des *Shigelles*. Le pouvoir pathogène des EIEC est caractérisé par leur capacité à envahir et à se multiplier dans les cellules épithéliales du côlon. Le phénomène d'invasion est précédé d'une étape au cours de laquelle se manifeste une diarrhée aqueuse probablement due à l'action d'une entérotoxine et/ou d'une cytotoxine [35].

***E. coli* entérohémorragique (EHEC, « Enterohemorrhagic *E. coli* » ou ECEH) :**

Les EHEC sont responsables de colites hémorragiques sporadiques ou épidémiques. Les premiers cas ont été observés aux Etats-Unis en 1982 dans le Michigan et l'Oregon et au Canada en 1983. Ils étaient dus à une souche de *E. coli* sérotype O157 : H7 qui contaminait la viande de hamburger. Actuellement, la majorité des souches d'EHEC isolées dans les selles des patients appartiennent au sérotype O157 et aux sérotypes O157 : H7. Cependant, des souches plus rares font partie d'un autre sérotype, dont : O111, O26, O55 et O128

Les symptômes principaux de l'infection par cette bactérie sont : une diarrhée aqueuse suivie d'une colite hémorragique caractérisée par des crampes abdominales sévères et une diarrhée sanglante. Le patient n'est pas fébrile et les selles ne contiennent pas de leucocytes (ce qui différencie ce syndrome de la diarrhée dysentérique due aux EIEC ou aux *Shigella*). Dans moins de 10% des cas, surtout chez le jeune enfant et le vieillard, l'état général peut

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

s'aggraver et évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) caractérisé par une insuffisance rénale aiguë et parfois vers un purpura thrombotique thrombocytopénique (23).

Le pouvoir pathogène des EHEC est relié à deux propriétés spécifiques fondamentales : l'adhérence des bactéries aux cellules intestinales humaines et la synthèse d'exotoxines. Le phénomène d'adhérence est semblable à celui mis en jeu par les EPEC.

Les exotoxines sécrétées sont appelées « Shiga like toxins I et II » (SLT-I et SLT-II) en raison de leur homologie avec la toxine produite par *Shigella dysenteriae* sérotype 1. Ces toxines sont aussi appelées Verotoxine (VTI et VTII) car elles sont actives (mort cellulaire obtenue en 3 jours) sur les cellules Vero en culture [23].

***E. coli* entéroagregatif (EAggEC, « Enteroaggregative *E. coli* » ou ECEAg) :**

Les EAggEC sont responsables de diarrhées du nourrisson et des jeunes enfants qui sévissent dans les pays émergents. Les troubles intestinaux sont identiques à ceux dus aux EPEC mais sont plus persistants.

Le mécanisme pathogène mis en jeu par ces bactéries est mal connu. Cependant, elles forment d'une manière constante des agrégats en forme d'amas de brique à la surface des cellules en culture. Cette propriété d'adhésion (phénotype agrégatif) est particulière et spécifique ; elle est reliée à la présence du facteur d'adhésion AAF/1 dont l'origine est plasmidique et la structure protéique et qui est organisé sous la forme fimbriale à la surface des bactéries. D'autre part, les EAggEC peuvent produire une entérotoxine thermostable appelée EAST-1 (« Enteroaggregative *E. coli* heat stable enterotoxin ») [35].

***E. coli* adhésion diffuse (DAEC, « Diffuse-adhering *E. coli* » ou ECAD) :**

Les DAEC ont d'abord été classés parmi les EPEC en raison de leur sérotype et de leur présence dans des selles d'enfants atteints de diarrhée. Dans ce groupe, ils formaient la classe II étant donné leur phénotype d'adhésion particulier (adhésion diffuse), la classe I ayant été réservée aux souches douées de propriétés d'adhésion conférant le phénotype localisé. Il semblerait que seules certaines tranches d'âge parmi la population pédiatrique (48-60 mois) développent des diarrhées dues à ces germes.

Leur pouvoir pathogène est encore controversé et les résultats des études épidémiologiques les concernant sont contradictoires. Ils sont caractérisés par leurs propriétés d'adhérence. Les

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

bactéries sont réparties sur la surface des cellules intestinales ou de cellules d'autres origines sans former d'amas particuliers (adhésion de type diffus, DA). Deux facteurs d'adhésion conférant ce phénotype ont été identifiés : un fimbriae appelé F1845 et une protéine de membrane externe appelée AIDA-I (« Adhesine involved in diffuse adherence ») [31].

- Cycle biologique de *E. coli* :[36]

Du tractus intestinal de ses hôtes à sang chaud, *E. coli* gagne le milieu extérieur lors de l'excrétion des matières fécales. Il contamine ainsi l'environnement et se retrouve dans le sol, dans l'eau, dans les plantes, etc.

Dans ce nouvel habitat, compte tenu des facteurs abiotiques (température inappropriée, salinité élevée, déficit en nutriments, etc.), les cellules entrent dans un état de dormance tout en demeurant métaboliquement actives. En fonction des facteurs édaphiques tels que la porosité du sol, les mouvements gravitationnels et la percolation, *E. coli* peuvent migrer de la surface et atteindre les eaux souterraines.

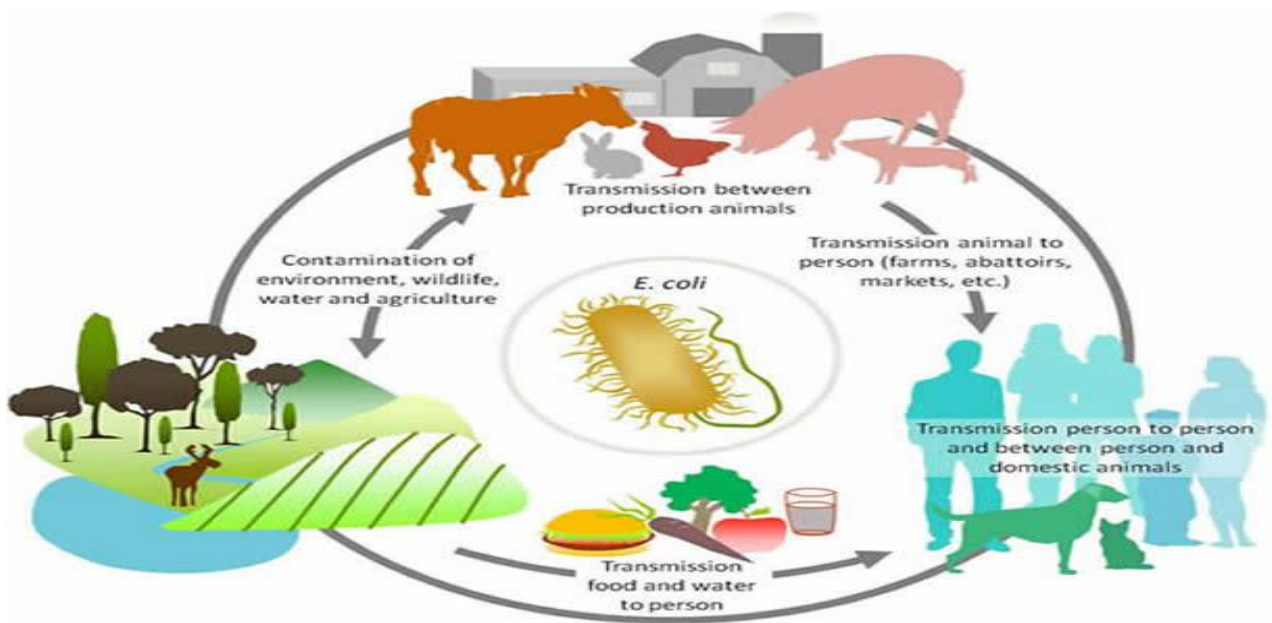


Figure 5: Cycle biologique de *Escherichia coli*[37]

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.5 Les antibiotiques :

2.5.1 Historique :

La découverte de la pénicilline en 1928 par Alexander Fleming, a été suivie par la découverte et la production commerciale de nombreuses autres substances ayant des activités inhibitrices de la croissance bactérienne. Ainsi toute substance qui inhibe la croissance et la réplication d'une bactérie ou la tue carrément peut être appelée un antibiotique. Les antibiotiques sont un type d'antimicrobien conçu pour cibler les infections bactériennes dans (ou sur) l'organisme[38].

2.5.2 Définition :

Les antibiotiques sont des molécules chimiques ou de synthèses capables de détruire les microorganismes ou du moins de limiter de manière significative leur multiplication. Ce terme est généralement réservé aux molécules dont l'action est antibactérienne (bactéricides ou bactériostatiques) [39].

Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) [40].

2.5.3 Mode d'action :

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide).

Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes [1].

2.5.3.1 Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane :

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes de glycanes relié par des peptides. Cette molécule n'existe que chez les bactéries et assure la rigidité de la paroi. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie [29].

2.5.3.2 Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines :

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries.

- Antibiotiques se fixant sur la sous unité 30S du ribosome : Les cyclines se fixent de manière réversible et les aminoacides de manière irréversible sur la sous-unité 30S.
- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome : Le chloramphénicol, les macrolides, les lincosamides et les synergistines se fixent de manière réversible sur la sous-unité 50S.
- Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G : C'est le mode d'action de l'acide fusidique [29].

2.5.3.3 Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques :

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs des topoisomérases regroupent les quinolones. Ces 2 familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.

Les sulfamides agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes [41].

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.5.3.4 Antibiotiques agissant sur les membranes :

En raison de la similitude entre les membranes des cellules bactériennes et des cellules eucaryotes, les antibiotiques actifs sur la membrane sont toxiques et seul un nombre restreint de molécules a trouvé une utilisation thérapeutique.

Les polymyxines : polymyxine B et polymyxine E (colistine), sont constituées d'un polypeptide cyclique et d'un acide gras. Par leur extrémité hydrophobe, ces antibiotiques pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire ce qui provoque la mort de la cellule.

Les polymyxines actives sur les bactéries à Grams négatif, agissent tout d'abord sur la membrane externe entraînant des modifications morphologiques comme la formation de vésicules, puis, la membrane cytoplasmique est atteinte ce qui provoque la fuite de substances intracellulaires et la mort des bactéries [41].

2.5.4 Classification des antibiotiques : [42]

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité.

Tout en adoptant la classification des antibiotiques en grandes familles, nous étudierons uniquement les antibiotiques utilisés sur les bacilles à Gram négatif.

Les grandes familles d'antibiotiques :

- Les β -lactamines (action bactéricide)
- Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (action bactériostatique)
- Les Aminosides (action bactéricide)
- Les Sulfamides (action bactériostatique)
- Le chloramphénicol (action bactériostatique)
- 5-nitro-imidazolés (action bactéricide)
- Les Polymyxines (action bactéricide)
- Les Tétracyclines (action bactériostatique)
- Les Glycopeptides (action bactéricide)

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- Les Quinolones (action bactéricide)
- Les rifamycines
- Les Antibiotiques divers :
 - acide fusidique
 - Fosfomycine.

2.5.4.1 Généralités sur les β -lactamines : [43]

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. Elles constituent la famille la plus fréquemment utilisée dans le monde, pour leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide temps-dépendant, leur faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles.

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.

2.5.4.2 Structure :

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame qui est formé de quatre membres : trois atomes de carbones et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules

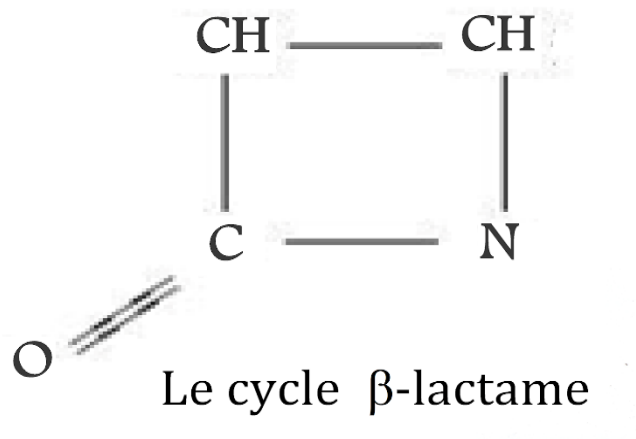


Figure 6: Noyau β -lactame[44]

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.5.4.3 Mode d'actions des β -lactamines : [43]

Les β -lactamines, analogues structuraux de la terminaison peptidyl-D-alanyl-Dalanine du peptidoglycane, ont pour fonction d'interagir avec un groupe de protéines, les PLPs, également appelées protéines de fixation de la pénicilline (PBP, pour Penicillin Binding Protein), des enzymes responsables de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane. L'inhibition de ces transpeptidases, impliquées dans l'étape finale de la biosynthèse de la paroi cellulaire, le cycle β lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire.

2.5.4.4 Familles des β -lactamines : [43]

La famille des β -lactamines est répartie en quatre principaux groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes.

2.5.4.4.1 Les pénicillines (noyau pénème) :

Dont font partie la pénicilline G, la méticilline et les Isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les aminopénicillines (ampicilline et amoxicilline), les uréidopénicillines (pipéracilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) et les amidinopénicillines (mécillinam).

2.5.4.4.2 Les céphalosporines (noyau céphème) :

Les céphalosporines sont des antibiotiques appartenant à la grande famille des β lactamines. La mise en évidence de cette famille a été initiée en 1945 par le professeur BROTZU en Sardaigne. Il a mis en évidence l'activité antibactérienne du filtrat d'un champignon dénommé *Cephalosporium acremonium*, isolé à partir d'eau de mer prélevée à proximité d'une décharge publique.

Ces β -lactamines sont toutes à large spectre et leur intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif. Actuellement, il existe quatre générations de céphalosporines classées selon leur date de mise sur le marché et leur spectre d'activité :

- **Première génération (C1G) :** Comme la cefalotine, la céfaloridine, sont essentiellement efficaces contre les bactéries pathogènes Gram positif comme

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Staphylococcus aureus et *Streptococcus pneumoniae* et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinases inductibles comme *E. coli* et *Salmonella enterica*. Ce sont les moins stables vis-à-vis de l'hydrolyse par les bêta-lactamases.

- **Deuxième génération (C2G) :** Comme le céfamandole, la céfoxitine, sont caractérisées par une meilleure résistance aux β -lactamases à large spectre et un spectre d'action plus étendu au sein des entérobactéries, avec des variations selon les molécules.
- **Troisième génération (C3G) :** Telles que céfotaxime, ceftazidime, se distinguent par un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des β -lactamases comme les pénicillinases et les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.
- **Quatrième génération (C4G) :** Telles que céfépime, cefpirome, sont à large spectre et présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases hyperproduites. Elles sont une substitution possible aux céphalosporines de troisième génération pour le traitement de germes résistants.

2.5.4.4.3 Les carbapénèmes (noyau pénème) :

Sont les plus efficaces actuellement, exemples : imipénème, méropénème. Ils sont très actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.

Les carbapénèmes sont les seules β -lactamines dont l'efficacité est prouvée dans les infections graves dues aux bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

De très rares souches d'entérobactéries capables de dégrader l'imipénème ont été décrites.

2.5.4.4.4 Les monobactames (noyau azétidine) :

Représentés par l'aztréonam, qui a une activité sur les bacilles à Gram négatif comparable à celles des céphalosporines de 3^{ème} génération, mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies. Ils existent également des inhibiteurs de β -lactamases : les clavames (acide clavulanique) et les pénicillines-sulfones (tazobactam et sulbactam). Ces molécules sont des inhibiteurs compétitifs des β -lactamases actives sur les pénicillines. Ils sont

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

dépourvus d'activité antibactérienne car ils n'inhibent pas les PLPs, ils sont utilisés en association avec d'autres β -lactamines (amoxicilline, ticarcilline et pipéracilline).

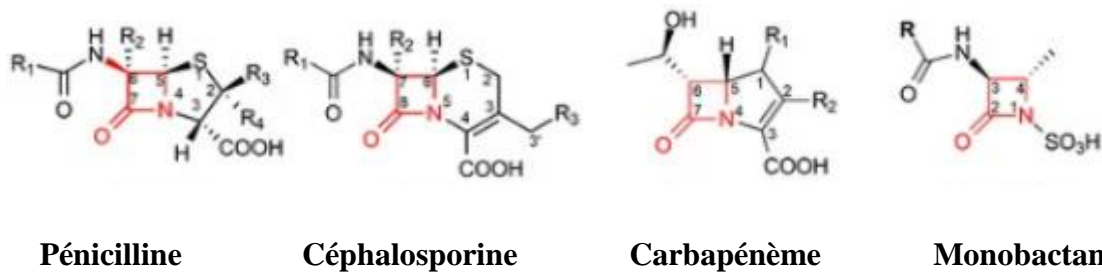


Figure 7: Structures principales de différentes classes de β -lactamines [45]

2.5.4.5 Les aminosides :

2.5.4.5.1 Origine :

La streptomycine, isolée de *Streptomyces griseus* en 1944 par WAKSMAN, est un bel exemple d'aminoglycoside important. La streptomycine a été l'antibiotique le plus célèbre après la découverte de la pénicilline, car il s'agissait de la première substance bactéricide qui manifestait une activité efficace lors du traitement d'une maladie mortelle, en l'occurrence la méningite tuberculeuse.

Les autres aminosides naturels produits par des souches de *Streptomyces* sont la néomycine, la kanamycine, la tobramycine.

La gentamicine et la sisomicine sont produites par les souches d'*Actinomyces*.

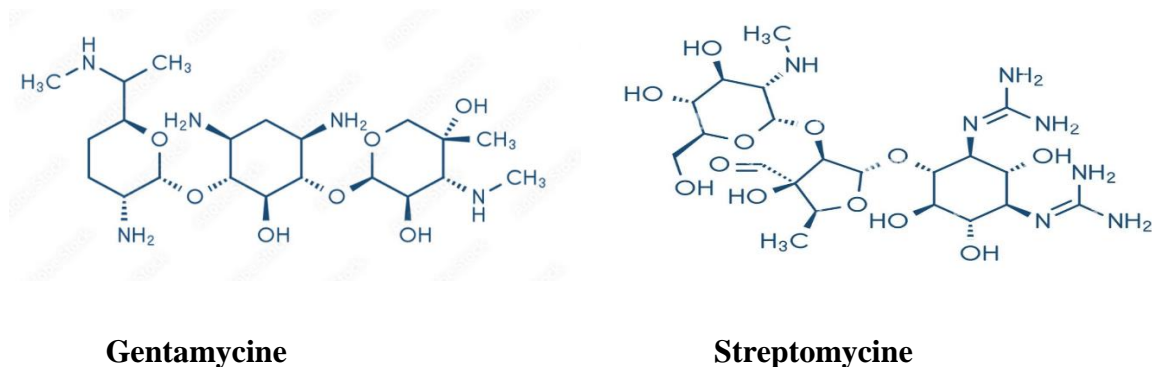
Ces composés naturels ont servi de base pour l'élaboration des produits semi synthétiques (amikacine, isépacine, nétilmicine) développés afin d'obtenir des molécules insensibles à l'inactivation par les bactéries devenues résistantes aux aminoglycosides naturels.

2.5.4.5.2 Structure :

Les aminoglycosides sont des molécules polaires et poly cationiques.

Leur structure de base commune comporte un aminocyclitol, auquel se lie par des ponts glycosides, 2 (ou exceptionnellement) oses. Ces cycles peuvent porter des substituants dont les plus importants sont les groupes hydroxyles et les groupes basiques.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes



Gentamycine

Streptomycine

Figure 8: Structures principales des antibiotiques de la classes des Aminoglycosides[46]

Les Aminosides étudiés : amikacine tobramycine kanamycine et gentamycine

- ✓ Spectre d'activité Antibiotiques à spectres larges, habituellement bactéricides :
- ✓ Cocci et Bacilles à Gram positif (les Streptocoques et le pneumocoque ont une résistance naturelle)
- ✓ Cocci et Bacilles à Gram négatif sauf les *Providencia* ;
- ✓ Mycobactéries
- ✓ Toutes les bactéries anaérobies sont résistantes

2.5.4.5.3 Mode d'action :

Les aminoglycosides sont des antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique, suite à leur fixation sur la sous-unité 30 S du ribosome bactérien.

2.5.4.6 Les sulfamides :

2.5.4.6.1 Historique :

Les propriétés anti-infectieuses d'un colorant azoïque (le PRONTOSIL) ont été reconnues en 1933 par le pharmacologue allemand DOMAG ; cette découverte a été le point de départ de la chimiothérapie anti-infectieuse.

En 1935, l'équipe de l'institut Pasteur de Paris (FOURNEAU, TREFOUET, NITTI ET, BOVET) démontra que la structure active du produit était l'élément p-aminobenzène-sulfonamide (ou sulfanilamide, contracté en « sulfamide »).

Puis l'intérêt thérapeutique des sulfamides a diminué avec l'utilisation d'antibiotiques, souvent plus efficaces et moins dangereuses. L'adjonction à un sulfamide d'une substance qui

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

renforce son efficacité (triméthoprime, pyriméthamine) a relancé la sulfamidothérapie sans lever toutefois la crainte de survenue d'effets toxiques.

2.5.4.6.2 Spectre d'activité :

Leur spectre est théoriquement large mais certaines espèces présentent une résistance naturelle : *Enterococcus faecalis* et les *Lactobacillus* ; *Pseudomonas aeruginosa* est peu sensible. De nombreuses souches, de toutes espèces, ont acquis une résistance. L'action des sulfamides est seulement bactériostatique.

2.5.4.6.3 Mécanisme d'action :

Le mécanisme réside dans une inhibition compétitive de la dihydroptéroate synthétase ; la synthèse de l'acide dihydrofolique est ainsi bloquée.

2.5.4.7 Association : Sulfamide-triméthoprime :

Le Triméthoprime est un inhibiteur des folates. Il appartient à la famille des 2-4diamino-pyrimidines qui sont des antibactériens et des antiparasitaires.

Le Triméthoprime agit dans le blocage enzymatique de la synthèse des folates, juste après les sulfamides.

2.5.4.8 Le Chloramphénicol :

2.5.4.8.1 Historique :

Le Chloramphénicol fut historiquement, le premier antibiotique à large spectre, extrait en 1947 par EHRLICH, de *Streptomyces venezuelae*, mais obtenu actuellement par synthèse, de même que son dérivé, le thiamphénicol (thiophénicol).

2.5.4.8.2 Spectre d'activité :

Spectre large, comprenant théoriquement la plupart des espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que les *Rickettsia* et les Chlamydiales.

Mécanisme d'action :

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Le Chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique, inhibiteur de la synthèse des protéines bactériennes (mais il peut avoir, à forte concentration et sur certains germes comme le pneumocoque, les *Haemophilus* ou les *Neisseria*, une action bactéricide).

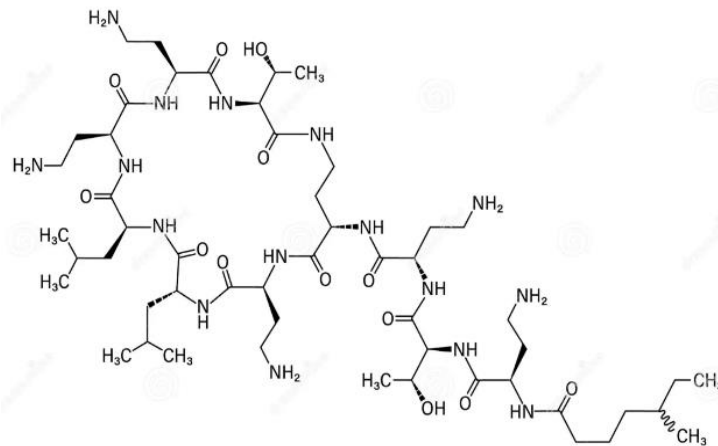
2.5.4.9 Les polymyxines :

2.5.4.9.1 Historique :

Ce sont des polypeptides cycliques découverts simultanément en 1947 par trois groupes de chercheurs. Les polymyxines sont produites par *Bacillus polymyxa*. Cinq produits principaux constituent ce groupe : les polymyxines A, B, C, D, E.

Tous sont toxiques en particulier pour le rein, à des degrés divers.

Les polymyxines A, C et D sont trop toxiques pour être utilisés en clinique ; seules le sont la polymyxine B et surtout la polymyxine E ou colistine.



Polymyxine E ou colistine

Figure 9: Structure principale de la colistine (polymyxine E) [47]

2.5.4.9.2 Mécanisme d'action :

Ils se fixent sur certains constituants des membranes interne et externe des bactéries (phospholipides, lipopolysaccharides), et modifient la perméabilité de ces structures.

Polymyxine étudiée : **Colistine**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.5.4.9.3 Spectre d'activité :

Antibiotique bactéricide à spectre étroit, elle agit sur *Vibrio cholerae* et les entérobactéries (sauf *Proteus*, *Serratia*, *Providencia*, *Edwardsiella*).

2.5.4.10 Les tétracyclines :

2.5.4.10.1 Historique :

La chlortétracycline (auréomycine) est l'une des tétracyclines les mieux connues. Cet antibiotique, première tétracycline, a été découvert en 1948 à partir de *Streptomyces aureofaciens*. Aujourd'hui les tétracyclines sont obtenues par synthèse.

2.5.4.10.2 Structure :

Les tétracyclines doivent leur nom à leur structure tétracyclique commune (noyau naphtacène-carboxamide), sur laquelle viennent se greffer des substituants au niveau des positions indiquées par un astérisque.

Les différents produits sont : Tétracycline, Oxytétracycline, Chlortétracycline, Déméthylchlortétracycline, Rolitétracycline, Métacycline, Doxycycline, Minocycline, Tigécycline.

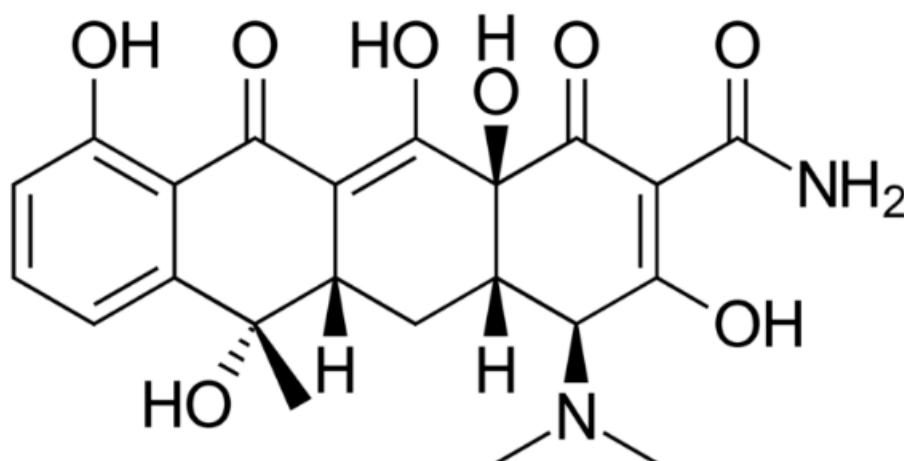


Figure 10: Structure chimique de la tétracycline[48]

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.5.4.10.3 Mode d'action :

Inhibition de la synthèse protéique au niveau des ribosomes, par liaison avec les protéines de la sous-unité 30 S, mais peut être aussi en moindre proportion sur la sous-unité 50.

2.5.4.10.4 Spectre d'activité :

Elles sont actives, théoriquement, sur de très nombreuses espèces à Gram positif ou à Gram négatif, sur les Rickettsia, les Chlamydia, les Mycoplasmes.

2.5.4.11 Les quinolones : [49]

2.5.4.11.1 Historique :

Les Quinolones sont des antibiotiques de synthèse chimique. En effet, en 1958, les chercheurs s'étaient aperçus de l'activité d'un produit secondaire obtenu lors de la synthèse de la chloroquine (connue, elle, depuis 1939) : la 7-chloroquine.

En 1962, la première quinolone directement dérivée de la 7-chloroquine vit le jour : l'acide nalidixique, actif sur certains bacilles à Gram négatif. Ce n'est que dans les années 80 que virent le jour les fluoroquinolones.

- **Quinolones de première génération :** l'acide nalidixique

Elle exerce une action bactéricide sur la plupart des bactéries à Gram négatif responsables des infections urinaires.

- **Quinolones de deuxième génération ou Fluoroquinolones :** la norfloxacine

Ces quinolones présentent de nombreux avantages. Le spectre antibactérien est large, portant surtout sur les entérobactéries (y compris les *Salmonella*) mais aussi les *Legionella*, le *staphylocoque* méthicillino-sensible (mais non le *Streptocoque*), parfois les *Pseudomonas*, certaines mycobactéries, les *Bactéroïdes*.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

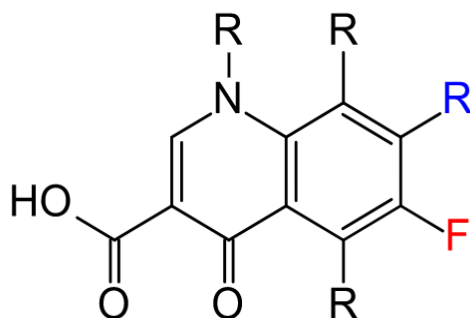


Figure 11: Structure générale des Fluoroquinolones[50]

2.5.4.11.2 Mécanisme d'action :

Ce sont des inhibiteurs de l'ADN-gyrase bactérienne, enzyme indispensable à la préparation de l'ADN pour sa transcription ; cette inhibition est létale pour la bactérie (les quinolones sont donc bactéricides).

2.6 Résistance aux antibiotiques :

2.6.1 Notions de résistance bactérienne :

Une souche bactérienne est dite « résistante » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Autrement dit, les souches qui supportent des concentrations critiques d'antibiotiques plus élevées que celles qu'ils sont possibles d'atteindre in vivo.[51]

2.6.2 Les différents types de la résistance bactérienne : [52]

2.6.2.1 Résistance naturelle ou intrinsèque :

La résistance naturelle est une caractéristique d'une espèce bactérienne, de support habituellement chromosomique qui délimite le spectre d'antibiotique et peut aider à l'identification. La transmission de cette résistance est verticale, de la bactérie vers sa descendance. La résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif se manifeste souvent par des céphalosporinases chromosomiques qui s'expriment soit d'une manière constitutive ou inductible

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

2.6.2.2 Résistance acquise :

On oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme [53].

2.6.3 Mécanismes de résistance aux antibiotiques :

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule.

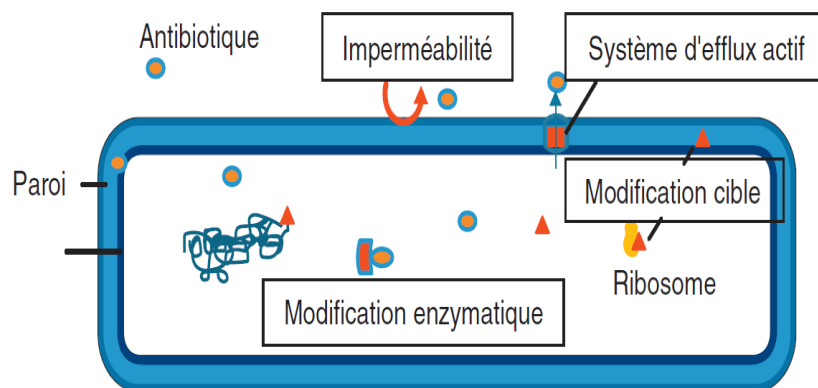


Figure 12: Schéma des différents mécanismes de résistance aux antibiotiques[54]

2.6.3.1 Résistance non enzymatique :

2.6.3.1.1 Diminution de la perméabilité :

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée (pénicillines). Des résistances acquises dues à une diminution de perméabilité de la paroi ont été rapportées chez *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines [55].

2.6.3.1.2 Hyperproduction de système d'efflux :

L'exportation active est un mécanisme de résistance de certaines bactéries aux antibiotiques grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Chez les bactéries à Gram

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe [52].

2.6.3.1.3 Modification des protéines liant la pénicilline (PLP) :

Les PLP sont des cibles physiologiques des β -lactamines. Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP 2 et une diminution de la quantité de la PLP. Ce mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries [56].

2.6.3.2 Résistance enzymatique : [52]

2.6.3.2.1 Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE) :

Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes, appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler avec le support génétique est plasmidique ou chromosomique, capables d'hydrolyser et causer une résistance aux oxymino-céphalosporines (C3G et C4G) et les monobactames, mais pas aux céphamycines (C2G) ou carbapénèmes. Ces enzymes sont inhibés par bêta -lactamases telle que l'acide clavulanique, le sulbactam et tazobactam. Elles ont été classées en 11 familles différentes sur la base de leur séquence d'acides aminés. Les 4 familles majeures sont représentées par les enzymes de type TEM, SHV, OXA et CTX-M.

- **BLASE de type TEM :** de nombreux dérivés de TEM-1/2 ont été décrits à ce jour, plus de 150. Les plus fréquentes sont TEM-24, TEM-3, TEM-4 et TEM-52.
- **BLASE de type SHV :** plus de 60, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe.
- **BLASE de type CTX-M :** à ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (plus de 50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45.[57]

2.6.3.2.2 Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C (céphalosporinase de haut niveau) :

Le phénotype de résistance céphalosporinase de haut niveau se traduit par une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes. Il peut subsister une activité des céphalosporines à large spectre (céfépime, cefpirome). Il s'agit d'un phénotype retrouvé

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

principalement chez les bactéries possédant naturellement une céphalosporinase AMPc qui peut être alors sûrement exprimée (*Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et autres entérobactéries du même groupe).

2.6.3.2.3 Les carbapénémases :

Les carbapénèmes sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections β -lactamases à spectre élargi sévères dues aux entérobactéries productrices de (BLSE). Mais leur utilisation pourrait être compromise par l'émergence de souches de bactéries résistantes également aux carbapénèmes. Chez les entérobactéries, cette résistance est principalement due à mécanismes

Acquisition des métallo- β -lactamases (VIM, IMP) : ces enzymes, appartenant à la classe B d'ambler, hydrolysent toutes les β -lactamases à l'exception de l'aztréonam. L'activité de ces enzymes est inhibée par l'addition de chélateur d'ions bivalents. Ce sont des métalloprotéines, chromosomiques ou plasmidiques.

Acquisition de non métallo- β -lactamases : Constituent un groupe hétérogène. Elles sont caractérisées par une hydrolyse plus rapide de l'oxacilline et de la cloxacilline que de la benzylpénicilline. Les oxacillinases classiques sont inhibées in vitro par le chlorure de sodium.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau II: Détection phénotypique de la résistance aux bêtalactamines[58]

Antibiotiques	Phénotypes Sauvages	Pénicillinase de BN	Pénicillinase de HN	Céphalosporinase	BLSE
Aminopénicillines	S	R	R	R	R
AMP+AC	S	S	I/R	R	R
Carboxypénicillines	S	R	R	S	R
C1G	S	I	I/R	R	R
C2G (FOX)	S	S	S	R	S
C3G	S	S	S	R	R
C4G	S	S	S	R	R
Carbapénèmes	S	S	S	S	S

Aminopénicillines : Amoxicilline, AMP+AC : Aminopénicillines + acide clavulanique
 Carboxypénicillines : Ticarcilline, C1G : Cefalotine, C2G : Céfotaxime, C3G : Ceftazidime
 Carbapénème : Imipenème, S : Sensible, R : Résistant, I : Intermédiaire.

Tableau III: Détection phénotypique de la résistance aux aminosides

Phénotyp e	G	A	GT	TA	GTN	KTG	KTAN	KTG N	KTG AN
Enzyme	AAC(3)-I	APH(3')-VI	AAC(3)-VI	ANT(4")-II	AAC(2')-I AAC(3)-IV	ANT(2")-I	AAC(6')-I	AAC(3)-II	Imperm Assoc . enz
Gentamicine	R	S	R	S	R	R	S	R	R
Tobramycine	S	S	R	R	R	R	R	R	R
Nétilmicine	S	S	S	S	R	S	R	R	R
Amikacine	S	R	S	R	S	S	R	S	R

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau IV: Détection phénotypique de la résistance aux quinolones

Phénotype	Acide nalidixique	Norfloxacine	Pefloxacine	Ciprofloxacine
I	S	S	S	S
II	R	S	S	S
III	R	I/R	I/R	S
IV	R	R	R	R
Efflux Rares	S	R	S	S

(E. coli)

Le phénotype mixte consiste en la résistance à toutes les quinolones.[6]

Méthodologie

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

3 Méthodologie :

3.1 Lieu de l'étude :

Le laboratoire biomédical de Kayes « LABIOKA » a servi de lieu pour la collecte d'échantillons et la réalisation de l'ECBU pour notre étude.

L'Institut National de Santé Publique (INSP) de Bamako a servi de lieu pour la réalisation de l'antibiogramme et la recherche des gènes de résistance

3.1.1 Description de LABIOKA :

Le laboratoire biomédical de Kayes « LABIOKA » est un laboratoire privé situé dans la ville de Kayes, dans le quartier Papara sur la route de Médine en face de la Gendarmerie, créé le 31 Mai 2017.

3.1.2 Description de l'INSP :

Situé à l'hippodrome est un établissement public à caractère scientifique et technologique. Il a été créé par l'ordonnance n°2019-011/P-RM du 27 Mars 2019, il est né de la fusion de l'INRSP, du CREDOS, ANSSA, CNAM, centre de pharmacovigilance.

Ses missions se résument comme suit :

- Participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence ;
- Assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique ;
- Assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés ;
- assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
- Promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et d'accords d'assistance mutuelle ;
- Gérer les structures de recherche qui lui sont confiées.

Le service de bactériologie-virologie relève du département laboratoire. Il a servi de cadre de travail pour notre étude. Il comprend :

- Une section de bactériologie générale où sont réalisées les analyses sur les prélèvements de frottis vaginal, de pus, d'urines, de sang (hémoculture) et de coprocultures.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- Le laboratoire de référence pour la tuberculose ;
- Une section de stérilisation et de préparation des milieux de culture, eau distillée, etc.
- Un laboratoire de référence pour la méningite dotée d'équipements permettant l'identification des espèces bactériennes responsables de la méningite ;
- Un Laboratoire de PCR pour la détermination de la charge virale du VIH et le diagnostic précoce du VIH chez les enfants de mères séropositives.



Figure 13: Laboratoire de bactériologie et virologie de l'INSP

3.2 Type et période d'étude :

Nous avons réalisé une étude descriptive et prospective qui a porté sur les patients venus au LABIOKA avec une demande ECBU du mois de septembre 2023 au mois de février 2024.

3.3 Population d'étude :

Notre étude a concerné tous les patients venus au LABIOKA avec une demande de l'Examen Cytobactériologiques des Urines (ECBU) et chez qui *E. coli* a été isolé.

3.3.1 Critère d'inclusion :

Ont été inclus les patients avec une demande de l'examen cytobactériologiques des urines (ECBU) avec une leucocyturie chez qui *E. coli* a été isolé et ayant donné leur consentement pour l'étude

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

3.3.2 Critère de non inclusion :

N'ont pas été inclus les patients avec une demande de l'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU) dépourvue de leucocyte chez qui *E. coli* n'a pas été isolé et chez qui *E. coli* a été isolé mais n'ayant pas donné leur consentement pour l'étude

3.4 Taille de l'échantillon :

Cette étude a porté sur un total de 35 isolats bactériens de *Escherichia coli* isolés des urines au LABIOKA de Kayes.

3.5 Technique de laboratoire :

3.5.1.1 Analyse bactériologique :

Les échantillons ont été analysés selon la démarche méthodologique suivante

✚ Chez le patient non porteur d'une sonde

Après la désinfection du méat urinaire avec une solution antiseptique, les urines émises au milieu du jet sont recueillies dans un flacon stérile.

✚ Chez le malade porteur d'une sonde

Le tuyau d'évacuation est clampé pendant 10 mn, les urines s'accumulent ainsi en amont Et on ponctionne la tubulure avec une seringue (2 à 5 ml) après désinfection et on transvase dans un flacon stérile.

➤ Examen macroscopique

Il consiste à noter l'aspect macroscopique des urines totales qui peuvent être claires, légèrement troubles, troubles, purulentes ou hématique.

➤ Examen microscopique : « Examen cytologique »

Il comporte un examen à l'état frais et un examen après coloration de Gram

✚ L'examen à l'état frais permet de mettre en évidence la présence de leucocytes, d'hématies, de levures, de parasite et la flore bactérienne.

✚ L'examen du culot après une centrifugation a 3000 tours par minute pendant 5 minutes a permis de noter la présence de cellules épithéliales, de cristaux, de parasites tels que *Trichomonas vaginalis*, *Schistosoma haematobium*

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

✚ La coloration de Gram permet de voir la morphologie de la flore bactérienne, le mode de groupement, et le type de Gram (positif ou négatif.)

➤ **Culture et identification**

✚ Au premier jour, les urines diluées au 10-ème ont étéensemencées sur un milieu drigalski puis incubées à 37°C pendant 18-24h.

✚ Le dénombrement des germes urinaires (DGU) a été effectué en comptant le nombre de colonie sur le drigalski. Une colonie représente 10^4 germes/ml et le seuil de positivité était de 10^5 germes/ml. L'identification de *Escherichia coli* a été effectuée par l'étude des caractères morphologiques, cultureux et biochimiques.

• **Méthodes d'identification des bactéries :**

Nous avons utilisé deux méthodes : la galerie API 20E et par l'automate Vitek® 2 Compact

✓ **Identification bactérienne à partir de la galerie API 20 E :**

Principe de la galerie API 20 E :

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous formes déshydratées. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

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 tableau d'identification ou du catalogue analytique.

Le coffret API 20 E se compose de :

- ✓ 25galeries API 20 E,
- ✓ 25boites d'incubations,
- ✓ 25 fiches de résultat,
- ✓ 1 barrette de fermeture,
- ✓ 1 notice technique

Pour utiliser API 20 E, il faut en outre disposer de :

- ✓ Suspension medium de 5ml,

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- ✓ Kits de réactifs (réactif de James ou Kovacs, NIT1+NIT2, VP 1+VP 2, TDA),
- ✓ Huile de paraffine,
- ✓ Pipettes,
- ✓ Catalogue analytique API 20 E,
- ✓ Portoirs pour ampoules

Procédure :

- ✓ Repartir un peu d'eau dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide ;
- ✓ Incrire la référence de l'échantillon sur la languette latérale de la boîte ;
- ✓ Déposer la galerie de façon stérile dans la boîte d'inoculation,
- ✓ Ouvrir une ampoule de « suspension medium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile ;
- ✓ Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu,
- ✓ Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CIT, VP, GEL ;
- ✓ Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests ;
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH ; LDC ; ODC ; URE ; H2S ; en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine ;
- ✓ Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.
- ✓ Après incubation de 18-24 heures à 35-37°C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture suivant :



Figure 14: Galerie biochimique API 20E [30]

- ✓ **Identification bactérienne et antibiogramme sur automate Vitek 2 compact :**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Principe :

Entièrement automatisé, l'instrument permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme rapides et précis. Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante

✓ Technique

- Prendre le flacon eau saline Vitek[®] 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek[®] 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek[®]2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;
- A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien agiter au vortex ;
- A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à 0,5 McFarland ;
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;
- Préparer la solution pour antibiogramme :
- Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé la micropipette calibrée à 145µl (rouge) spécifique au Gram négatif.
- A partir de la suspension bactérienne, pipeter 145µl et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.
- Placer la carte d'identification GN, et la carte pour l'antibiogramme AST-N 233 Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;
- Cliquer sur l'icône Vitek[®] 2 -Mettre Identifiant du LRM

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- Cliquer sur gérer la cassette virtuelle
- Créer une cassette virtuelle
- Identification de la cassette 1,2...
- Lecture du code barre de chaque carte à partir de la douchette
- Saisir les données de l'isolat ;
- Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;
- Lorsque le message retiré s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le capot chargement puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.



Figure 15: Automate VITEK®2 Compact

- ✓ **Test de sensibilité aux antibiotiques : Méthodes de diffusion des disques d'antibiotiques :**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

L'antibiogramme est l'interprétation de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique en termes d'efficacité clinique. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensibles, intermédiaires ou résistantes)

La technique utilisée est la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton, l'antibiogramme est interprété après mesure des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA- SFM).



Figure 16: Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé selon Kirby Bauer

✓ **Tests de détections des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) :**

Au cours de l'antibiogramme, la production de BLSE a été mise en évidence par la recherche d'une synergie d'action entre l'association amoxicilline + acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération (CTX, CAZ) et ATM selon les techniques suivantes :

• **Principe :**

Le test de synergie permet la détection de BLSE chez une souche donnée. L'action de ces enzymes peut être mise en évidence par la méthode de diffusion sur disques, consistant à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération. Cette image se manifeste en bouchon de champagne.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

- **Technique**

La recherche de BLSE est faite dans les conditions standards de l'antibiogramme, en disposant les disques d'antibiotiques de la façon suivante :

Un disque d'AMC et les disques de C3G (CTX, CAZ) et ATM à une distance de 20 à 30 mm sur les boîtes de Pétri. Puis mettre en incubation pendant 24 heures à 37°C

- **Lecture**

La production des enzymes BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie dite bouchon de champagne entre les disques d'AMC et les C3G.

- ✓ **Conservation des souches bactériennes :**

Après l'identification et la réalisation de l'antibiogramme, les isolats de *Escherichia coli* ont été conservés dans les bouillons cœur cervelle avec glycérol à 99% avant d'être stockées à -80°C au sein du laboratoire

- ✓ **Transport des isolats :**

Les isolats de *Escherichia coli* ont été transportés du LABIOKA à l'INSP de Bamako en respectant les conditions de transport, dans les triples emballages accompagnés des accumulateurs congelés avec un enregistreur de la chaîne de froid (log tag).

3.5.1.2 Détection des gènes de résistance par PCR :

- ❖ **Le principe de la PCR :**

Il consiste à réaliser une succession de réaction d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces ou primer (séquence nucléotide courte) qui définissent alors en la bornant la séquence à amplifier. Chaque cycle de PCR est constitué de trois (3) étapes : une dénaturation de l'ADN pour séparer les deux brins complémentaires qui le composent puis une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée et en fin une élongation à l'aide d'une ADN polymérase (Taq). Ce cycle est répété un grand nombre de fois afin d'obtenir une multiplication de la séquence cible à la fin de la réaction.

- ❖ **Extraction d'ADN La méthode choc thermique (méthode de Bille)**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

L'extraction d'ADN a été réalisée par thermolyse libérant l'ADN bactérienne par choc thermique

Protocole d'extraction :

- Les isolats seront ensemencés sur la gélose trypticase soja et incubées à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ à la veille.
- Quelques colonies bactériennes (4 à 5) seront mises en suspension dans 200 μl du tampon Tris-EDTA dans un tube Eppendorf.
- Homogénéiser en vortexant le tube pendant 5 mn ;
- Porter à une température de 100°C pendant 10 min sur une plaque chauffante ;
- Placer immédiatement les tubes à -20°C pendant 5 mn ;
- Le brusque changement de la température de 100°C à -20°C oblige la bactérie de perdre sa membrane et met à nue son matériel génétique (l'ADN).
- Centrifuger à 13.000rpm pendant 10 mn ;
- Prélever 150 à 200 μl du surnageant (qui contient l'ADN sera ultérieurement utiliser comme la matrice d'ADN pour la recherche des gènes de résistances dans la réalisation de la technique de PCR).
- La matrice d'ADN est conservée à -20°C jusqu' à utilisation.

❖ Les gènes de résistances :

• Définition des amorces utilisées dans notre étude :

Les amorces ont été utilisées en simplex. Des solutions filles d'amorces ont été préparées à partir de la solution mère afin de limiter les phases de congélation et décongélation pouvant altérer la qualité des amorces. Les amorces reconstituées sont conservées à -20°C .

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau V: Les amorces utilisées pour la détection des gènes de résistance

Famille d'antibiotique	Gene cible	Séquence des nucléides 5' → 3'	Température d'hybridation (°C)	Taille Attendu de l'amplicons (pb)	Reference
β-lactamines	<i>TEM F</i>	TCCGCTCATGAGACAATAACC	58	296	[58]
	<i>TEM R</i>	ATAATACCGCACCATAGCAG			
	<i>CTX-M 1 F</i>	GACGATGTCACTGGCTGAGC	60	499	[59]
	<i>CTX-M 1 R</i>	AGCCGCCGACGCTAATACA			
	<i>SHV F</i>	TACCATGAGCGATAACAGCG	60	450	[58]
	<i>SHV R</i>	GATTTGCTGATTCGCTCGG			
Quinolones	<i>Qnr A F</i>	GGCAGCACTATTACTCCCA	55	657	[60]
	<i>Qnr A R</i>	GGCAGCACTATTACTCCCA			
	<i>Qnr B F</i>	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	55	469	
	<i>Qnr B R</i>	ACGATGCCTGGTAGTTGTCC			
	<i>Qnr S F</i>	ACGACATTCGRCAACTGCAA	55	417	
	<i>Qnr S R</i>	TAAATTGGCACCCTGTAGGC			
Aminosides	<i>AAC(69) F</i>	TTGGGAAGATGAAGTTTTTAGA	45	174	
	<i>AAC(69) R</i>	CCTTTACTCCAATAATTTGGCT			

❖ **Préparation de mix :**

Autres matériels nécessaires mais non fourni dans le KIT

Tube PCR, plaque PCR, thermocycleur, embout de micropipette avec barrière, éprouvette graduée 1000 ml et 100 ml, congélateur, lecteur UV, bac électrophorèse avec peigne, balance de précision.

Tableau VI: La reconstitution des amorces

Réactifs	Concentration initiale	Solution de travail
H ₂ O de qualité PCR	100 µl	-
Amorce sens	10nmol	10µM
Amorce anti sens	10nmol	10µM

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau VII: Protocole de préparation du mélange réactionnel du Master Mix

Réactifs	Volume par puits
Taq Master mix	25 µl
Amorce sens Primer F	1,25 µl
Amorce Antisens Primer R	1,25 µl
ADN du modèle	5 µl
Eau de qualité PCR	Compléter à 50 µl

Amplification avec le kit DreamTaq Green (2X) Conditions de stockage :

Le kit doit être conservé à -20 °C. Il est recommandé de faire des aliquots pour éviter plusieurs cycles de congélation-décongélation.

Durée de conservation : La durée de conservation peut aller jusqu'à 12 mois.

Forme : Liquide

Concentration : Il est concentré 2fois

Description :

Thermo Scientific DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) est une solution prête à l'emploi contenant de l'ADN polymérase DreamTaq, un tampon DreamTaq Green optimisé, du MgCl₂ et des dNTP. Le master mix conserve toutes les fonctionnalités de l'ADN polymérase DreamTaq. Il est capable d'une amplification robuste allant jusqu'à 6 kb à partir de l'ADN génomique et jusqu'à 20 kb à partir de l'ADN viral. Il garantit une sensibilité plus élevée, des produits PCR plus longs et des rendements plus élevés par rapport à l'ADN polymérase Taq conventionnelle. Une optimisation poussée des conditions de réaction n'est pas nécessaire.

Constituants :

- ❖ 4 × 1,25 ml DreamTaq Green PCR Master Mix (2X),
- ❖ L'ADN polymérase DreamTaq,
- ❖ 2X tampon DreamTaq Green,
- ❖ DNTTP
- ❖ 4Mm MgCl₂
- ❖ 4 × 1,25 ml d'eau sans nucléases

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Matrice : échantillon d'ADN contenant la région cible à amplifier.

ADN polymérase (Taq) : qui doit être résistant à la température pour pouvoir rester intacte au moment de la dénaturation.

Les deux amorces (primer) : qui sont complémentaires des extrémités 3' des brins sens et antisens de l'ADN cible (l'ADN polymérase peut uniquement se lier et procéder à l'élongation d'un double brin d'ADN, à l'absence des amorces l'élongation est impossible)

Désoxynucléotide triphosphate (dNTPs) : qui représente les briques de construction nécessaire de l'ADN polymérase pour synthétiser un nouveau brin d'ADN.

Solution tampon : qui apporte un environnement chimique important pour une activité et une stabilité optimale de l'ADN polymérase.

Les cations bivalents ; ions magnésium ou manganèse : généralement se sont les ions Mg^{2+} qui sont utilisés mais les ions Mn^{2+} peuvent aussi être utiliser pour la mutagénèse.

Le programme de la PCR conventionnelle :

L'amplification a été réalisée sur le thermocycleur **Gene AMP PCR système 9700** selon programme suivant :

Tableau VIII: Programme d'amplification de la PCR conventionnelle

Etape	Température (°C)	Temps	Cycle
Dénaturation initiale	95	1-3 mn	1
Dénaturation	95	30s	1
Hybridation ¹	45-68	30s	35
Extension ²	72	30s-1min	1
Extension finale	72	5-15min	35

1

La température d'hybridation dépend de la température de fusion des amorces utilisées

2

Le temps d'extension dépend de la longueur des fragments à amplifier. Un temps de 1min/ko est recommandé.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Pour une spécificité et une amplification optimale, une optimisation individuelle des paramètres recommandés peut être nécessaire pour chaque nouvelle matrice d'ADN et/ou paire d'amorces.

Après amplification le produit PCR peut être conservé à + 4°C pendant une nuit dans le thermocycleur ou -20 ° C pour une longue durée.

❖ Préparation du tampon TBE :

Le tris borate EDTA (TBE) 10X a été dilué au 1/10^{ème} dans l'eau distillée qui constitue la solution de travail pour la préparation du gel d'agarose et qui est encore utilisée pour la migration des produits d'amplification dans le bac d'électrophorèse

❖ Préparation du gel d'agarose à 1,5% :

Une quantité de 1,5 gramme de poudre d'agarose a été dilué dans 100 ml de tampon TBE. Ensuite le mélange a été chauffé à la micro-onde pendant 3 minutes jusqu'à ébullition et obtention d'une phase homogène limpide ensuite refroidir à 60°C à la température ambiante. Cinq (5) microlitres de bromure d'éthidium (Bet) a été ajouté. Bien mélanger, la solution finale est coulée dans un plateau d'électrophorèse sur lequel a été fixé les peignes formant des puits nécessaire du dépôt des amplicons. Le gel s'est solidifié à la température ambiante. Après solidification du gel, les peignes ont été retiré délicatement.

❖ Dépôt des échantillons :

Le dépôt des échantillons a été réalisé comme suit : 5 µl de marqueur de poids moléculaire (de 100 paires de bases) ont été mises au début et la fin des puits servant d'échelle de repères, et 5 µl d'amplicons dans les autres puits. Un courant électrique de 110 volts a été appliqué à la cuve pendant 45 minutes pour la migration électrophorétique des fragments d'ADN.

❖ Visualisation des produits PCR :

Après la migration le gel et son support ont été retirés de la cuve et exposé aux rayons ultraviolets. Les produits d'amplification ont été visualisés par fluorescence du bromure d'éthidium sous ultraviolet à 312 nanomètres.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

3.6 Variables étudiées :

- ❖ Les variables sociodémographiques
 - L'âge des patients,
 - Le sexe des patients.
- ❖ Les données biologiques
 - La nature des prélèvements,
 - L'espèce bactérienne identifiée,
 - Les résultats de l'antibiogramme
 - Les résultats de la recherche des gènes de résistance

La présente étude a comporté deux parties :

- ✓ La première partie était consacrée à la bactériologie classique : isolement, identification et antibiogramme de l'espèce concernées par l'étude ;
- ✓ La deuxième partie : Recherche moléculaire des gènes de résistance.

3.7 Outils de collectes et de saisie des données :

La collecte des données a été réalisée à partir des bulletins d'examen des patients sur lesquels toutes les informations nécessaires y sont portées. Ces données ont été saisies et analysées par le logiciel **Microsoft Excel 2016** et le traitement de texte par **Microsoft Word 2016**.

3.8 Aspect éthique :

Cette étude fait partie de nos activités. Avec l'autorisation du responsable du laboratoire biomédical de Kayes, nous avons strictement respecté la confidentialité des données et l'anonymat des patients tout au long de notre recherche. Les isolats *de E. coli* ont été conservés dans des congélateurs à accès limité. Les bonnes pratiques de laboratoire ont été rigoureusement suivies pendant toute la durée de cette étude.

3.9 Matériels essentiels :

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau IX: les matériels utilisés

<p align="center">▪ Equipment</p> <ul style="list-style-type: none"> – Microscope – Etuves – Densitomètre – Plaque chauffante – Autoclave – Congélateurs – Réfrigérateurs – Balance de précision – Micropipettes – Thermocycler – Cuve à migration – Gant – Blouse – Vortex – Appareil d'électrophorèse – Automate vitek® 2 Compact – Ecouvillons ; – Eau physiologique – Pince pour application de disque 	<p align="center">▪ Matériel biologique</p> <p>Souches cliniques de <i>Escherichia coli</i></p> <p align="center">▪ Petit matériel</p> <ul style="list-style-type: none"> – Anse – Bec bunsen – Pipettes et embouts – Disques d'antibiotiques – Microtubes – Boite de Pétri – Tubes Eppendorf <p align="center">▪ Milieux de culture</p> <ul style="list-style-type: none"> – MacConkey – Hektoen – Drigalski – Mueller Hinton – Bouillon cœur cerveau – Trypticase Soja 	<p align="center">▪ Consommables et réactifs</p> <ul style="list-style-type: none"> – Kits de coloration de Gram – Kovacs – API 20 E – L'eau oxygénée – Réactif d'oxydase – Le kit Dream Taq Green – Gel d'agarose – Eau stérile qualité biologie moléculaire VWR Eppendorf – Amorces sens et anti sens – Bromure d'éthidium (BET) 0,7 mg/ml – Tris borate EDTA 1(X) tampon de migration Invitrogen
--	--	---

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau X: Liste des disques d'antibiotiques testés et leur charge selon le CASFM 2023[59]

Famille	Disque d'antibiotique	Codes	Charges
Bêta-lactamines	Ampicilline	AMP	10 µg
	Ticarcilline	TC	75µg
	Pipéracilline	PRL	100µg
	Amoxicilline + acide clavulanique	AUG	30 µg
	Pipéracilline + tazobactam	TZP	110µg
	Céfoxitine	FOX	30 µg
	Ceftazidime	CAZ	10µg
	Ceftriaxone	CRO	30µg
	Céfépime	FEP	30µg
	Imipenème	IMI	10µg
	Ertapénème	ETP	10µg
Aminosides	Gentamycine	CN	10µg
	Tobramycin	TOB	30µg
	Amikacine	AK	30µg
	Kanamycine	AK	30µg
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg
	Lévofloxacine	LEV	5µg
	Ofloxacine	OFX	5 µg
Autres	Tigécycline	TGC	15 µg
	Fosfomycine	FOS	50 µg
	Chloramphenicol	C	30 µg
	Triméthoprime + Sulfamethoxazole	SXT	2,5µg
	Colistine	CS	30µg
	Nitrofurantoïne	F	300 µg

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

RESULTATS

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

4 Résultats :

4.1 Données Sociodémographiques

- Répartition des patients en fonction du sexe :

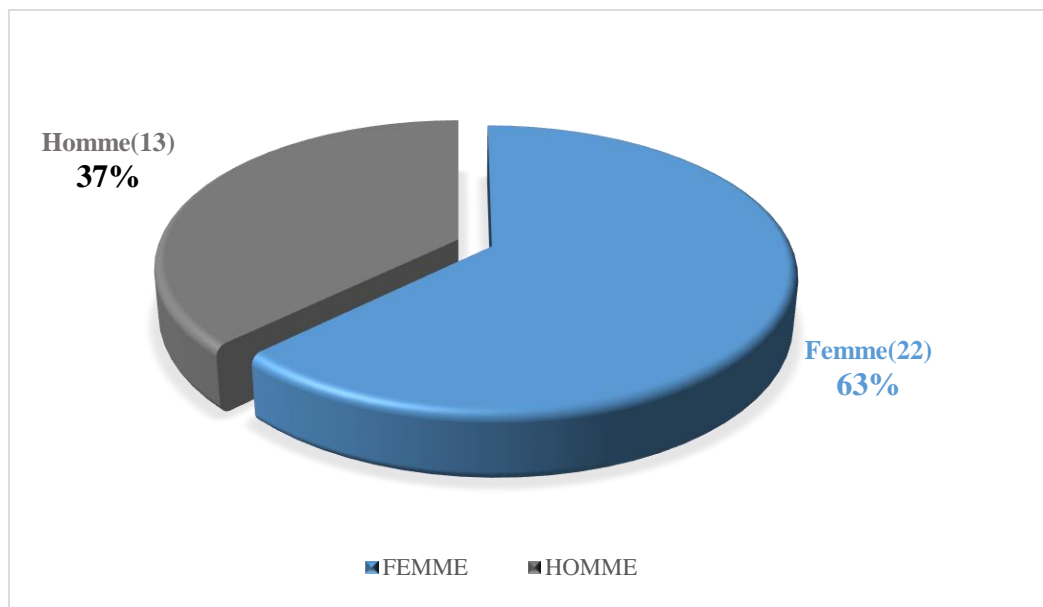


Figure 17: Répartition des patients infectés par *E. coli* selon le sexe

Durant notre étude, le sexe ratio était de 0,59.

- Age :

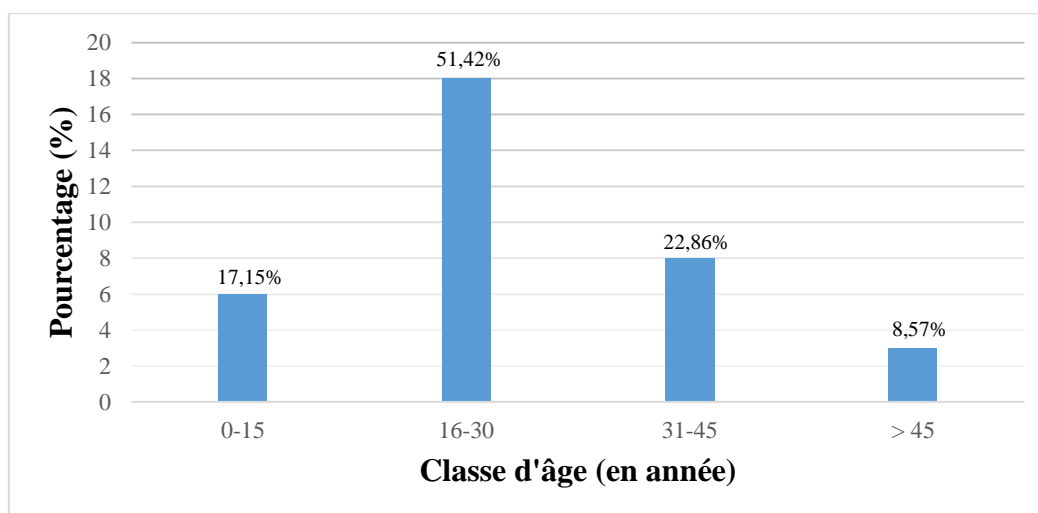


Figure 18: Répartition des patients infectés par *E. coli* selon la tranche d'âges

La tranche d'âge la plus représentée était de 16 à 30 ans avec une moyenne de $26,4 \pm 12,27$ ans avec des extrêmes allant de 6 à 58 ans.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

4.2 Résistance aux antibiotiques :

Tableau XI: Résistance des isolats de *E. coli* aux β -lactamines

β -lactamines	Résistants (N=35)	Fréquence (%)
Amoxi+acide clavulanique	31	89
Ampicilline	31	89
Pipéracilline	31	89
Ticarcilline	31	89
Ceftazidime	23	66
Céfépime	22	63
Pipéracilline + tazobactam	9	26
Céfoxitine	4	11
Ertapénème	0	0
Imipenème	0	0

Durant notre étude, nous avons rapporté une résistance à 89% de la sous famille des pénicillines par rapport aux autres sous familles.

Tableau XII: Résistance aux aminosides des isolats de *E. coli*

Aminosides	Résistants (N=35)	Fréquence (%)
Tobramycine	24	69
Kanamycine	19	54
Gentamycine	17	49
Amikacine	4	11

Pour les aminosides, 69% des isolats étaient résistants à la Tobramycine.

Tableau XIII: Résistance aux quinolones des isolats de *E. coli*

Quinolones	Résistants (N=35)	Fréquences (%)
Ofloxacine	25	71
Ciprofloxacine	22	63
Lévofloxacine	21	60

Dans notre étude nous avons enregistré 71% de résistance à l'ofloxacine soit 25 échantillons sur 35.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau XIV: Résistance aux autres classes d'antibiotiques des isolats de *E. coli*

Autres antibiotiques	Résistants (N=35)	Fréquences (%)
Triméthopri-me-sulfamide	29	83
Chloramphénicol	13	37
Fosfomycine	1	3
Tigécycline	1	3
Nitrofurantoin	0	0
Colistine	0	0

Nous avons enregistré une résistance de 83% au Triméthopri-me-sulfamide dans les autres classes d'antibiotiques.

4.3 Phénotype de résistances aux antibiotiques :

Tableau XV: Phénotypes de résistance aux β -lactamines des isolats de *E. coli*

Phénotype	Effectif (N=35)	Fréquences (%)
BLSE	22	62,9
PHN	8	22,9
Sauvage	4	11,4
Case	1	2,9

Au cours de notre étude, le phénotype BLSE a été retrouvé avec 62,9% suivis du PHN avec 22,9% des isolats.

Tableau XVI: Phénotype de résistance aux aminosides des isolats de *E. coli*

Phénotype	Effectif (N=35)	Fréquences (%)
Sauvage	10	29
Imperméabilité	3	9
GT	1	3

Le phénotype sauvage représentait 29% des souches retrouvées.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau XVII: Phénotype de résistances aux quinolones des isolats de *E. coli*

Phénotypes	Effectif (N=35)	Fréquences (%)
Mixte	19	54
Sauvage	9	26

Nous avons enregistré que le phénotype mixte représentait 54%.

4.4 Présence de gène de résistance chez les isolats résistants :

Tableau XVIII : Gènes associés à la résistance aux bêtalactamines aux quinolones et aux aminosides

Familles	Gènes	Effectif (N=35)	Fréquences (%)
Bêtalactamines	TEM	35	100
	CTX-M 1	25	71
	SHV	5	14
Quinolones	Qnr S	29	83
	Qnr B	20	57
	Qnr A	3	9
Aminosides	AAC	0	0

Les gènes *CTX-M 1*, *TEM* et *SHV* ont été retrouvés chez les isolats de *E. coli* toute fois le gène *TEM* a été retrouvé dans 100% des cas. Le gène *Qnr S* a été le plus représenté avec 83% des isolats.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

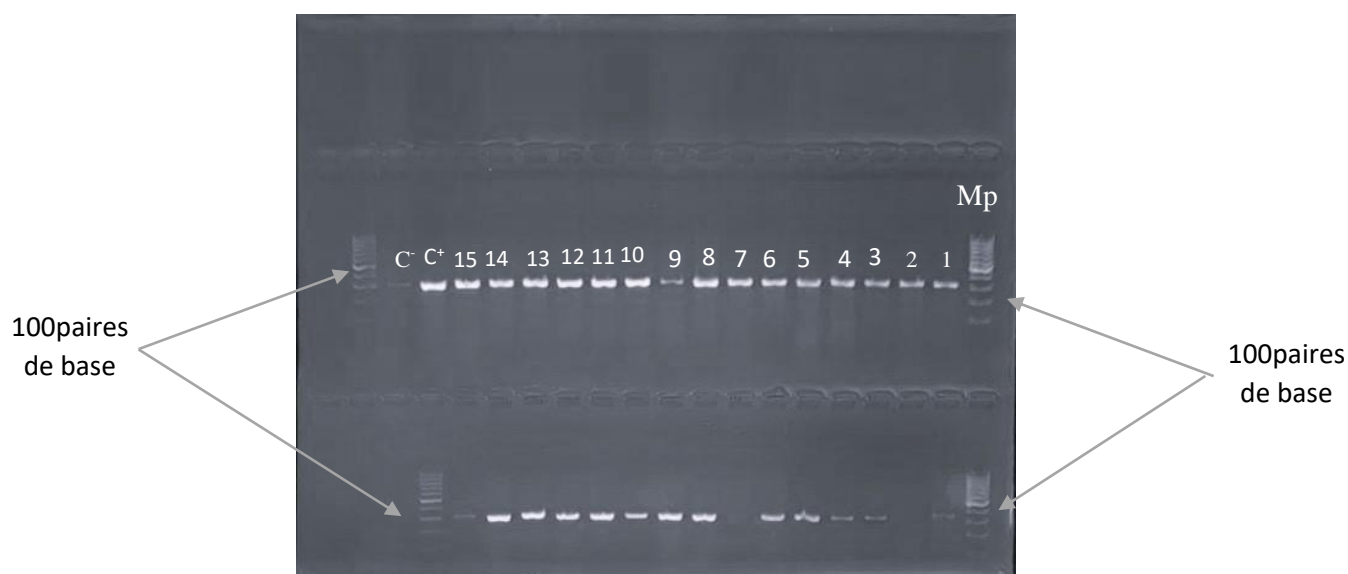


Figure 19: Résultat d'une PCR *TEM* ; Mp : marqueur de poids moléculaire à 100paires de base ; C⁺ : contrôle positif ; C⁻ : contrôle négatif ; 1 ; 2...14 ; 15 : échantillons positifs

4.5 Les gènes associés à la résistance aux antibiotiques :

Tableau XIX: Répartition des gènes associés à la résistance aux β -lactamines

β -lactamines	Résistants (N=35)	<i>CTX-M 1</i>	<i>TEM</i>	<i>SHV</i>
Amoxicilline + acide clavulanique	31	21	31	4
Ampicilline	31	21	31	4
Ticarcilline	31	21	31	4
Pipéracilline	30	20	30	3
Ceftazidime	23	15	23	2
Ceftriaxone	23	15	23	2
Céfépime	22	14	22	1
Pipéracilline + Tazobactam	9	7	9	2
Céfoxitine	4	3	4	1
Ertapénème	0	0	0	0
Imipénème	0	0	0	0

Nous avons rapporté une résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique ainsi qu'aux pénicillines avec une forte association du gène *TEM* suivi de *CTX-M 1*.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau XX: Répartition des gènes associés à la résistance aux Quinolones

Quinolone	Résistants (N=35)	<i>Qnr A</i>	<i>Qnr B</i>	<i>Qnr S</i>
Ofloxacine	25	1	12	19
Lévofoxacine	20	1	9	15
Ciprofloxacine	20	1	9	15

Nous avons retrouvé une forte présence du gène *Qnr S* associés à la résistance aux quinolones testées.

4.6 Gènes associés aux phénotypes de résistance :

Tableau XXI: Gènes associés aux phénotypes de résistance aux β -lactamines

Phénotype	<i>CTX-M 1</i>		<i>TEM</i>		<i>SHV</i>	
	Effectif (N=35)	Fréquence (%)	Effectif (N=35)	Fréquence (%)	Effectif (N=35)	Fréquence (%)
Sauvage	4	100	4	100	1	25
BLSE	14	64	22	100	1	5
PHN	2	25	8	100	2	25
Case	1	100	1	100	1	100

Durant notre étude, le gène *TEM* était présent sans exception chez tous les phénotypes retrouvés

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Tableau XXII: Gènes associés aux phénotypes de résistance aux quinolones

Phénotype	<i>Qnr A</i>		<i>Qnr B</i>		<i>Qnr S</i>	
	Effectif (N=35)	Fréquence (%)	Effectif (N=35)	Fréquence (%)	Effectif (N=35)	Fréquence (%)
Sauvage	2	22	7	78	9	100
Mixte	1	7	8	50	14	100

Le gène *Qnr B* était le plus représenté chez les phénotypes sauvage et mixte après le gène *Qnr S*.

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

DISCUSSION

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

5 Discussion :

La résistance aux antibiotiques augmente à grand pas sur l'échelle africaine et mondiale. C'est ainsi qu'au Mali vue la difficulté de la culture bactérienne dans les zones périphériques nous avons effectué une étude qui s'est déroulée sur 35 isolats de *Escherichia coli* isolés à partir des urines au niveau du laboratoire LABIOKA à Kayes et confirmés au laboratoire de bactériologie-virologie de l'INSP à Bamako. Cette étude nous a permis de déterminer les phénotypes de résistance aux antibiotiques, avec les gènes associés à la résistance par PCR et faire un lien entre phénotypes et gènes associés à la résistance.

5.1 Données sociodémographiques :

La tranche d'âge la plus représentée des patients infectés par *Escherichia coli* au cours de cette étude était de 16 à 30 ans et le sexe féminin était majoritaire avec 63%. **Kamga et al.[6]** au Cameroun en 2014 ont rapporté un taux d'isolement chez 58,25% des femmes similaire au nôtre. Cette prédominance féminine pourrait s'expliquer par la physiologie de l'urètre et une importante activité sexuelle dans cette tranche d'âge.

5.2 Résistance aux antibiotiques des germes isolés:

5.2.1 Résistance aux Bêtalactamines des isolats :

Dans notre étude, nous avons enregistré une résistance à l'ampicilline et à l'amoxicilline/acide clavulanique de 89%. Ces résultats sont supérieurs à ceux de **Vazouras et al.[60]** en Grèce centrale en 2019 qui ont rapporté des taux de résistance de 42% et 12,2% respectivement pour l'ampicilline et pour l'amoxicilline/acide clavulanique. Cette différence pourrait s'expliquer par l'âge et la fréquence de l'infection du tractus urinaire. La fréquence élevée de résistance pourrait être liées à beaucoup de facteurs tels que : la vente libre de ces antibiotiques sur le marché et le coût relativement bas de ces antibiotiques etc. ...

Tous les isolats étudiés étaient sensibles aux carbapénèmes testés (imipénème et Ertapénème). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Bouassida et al.[61]** en Tunisie en 2021 qui ont rapporté également une efficacité de 100% pour les carbapénèmes.

Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces antibiotiques sont des molécules de réserve à usage hospitalier avec un coût excessivement élevé.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

5.2.2 Résistance aux aminosides des isolats :

Au cours de notre étude, les disques d'antibiotiques de la famille des aminosides testés sur nos isolats étudiés avaient une faible activité antibactérienne. Cependant nous notons une meilleure activité de l'amikacine par rapport à la gentamycine et la tobramycine avec respectivement 11%, 49% et 69% des cas. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Dominika et al.[62]** à l'hôpital universitaire de Bialystok (Pologne) en 2018 qui ont retrouvé des taux de résistance plus élevés pour la tobramycine (70,5%) ; la gentamicine (59%), et l'amikacine (11,4%). Cette légère différence pourrait s'expliquer par la taille et le type d'échantillon.

5.2.3 Résistance aux quinolones des isolats :

Durant notre étude nous avons observé une résistance élevée aux quinolones testés avec 71% pour ofloxacine, 63% pour ciprofloxacine et 60% pour Lévofloxacine. Ces résultats sont différents de ceux d'une étude réalisée à l'hôpital d'Alzahra, en Iran en 2013 par **Dehbanipour et al.[63]** qui ont rapporté un taux de résistance de 45,2% aux fluoroquinolones (ciprofloxacine, norfloxacine et ofloxacine).

Cette résistance élevée peut être justifiée par le fait que ces molécules sont beaucoup prescrites dans les différents traitements infectieux (infection urinaire) à l'hôpital mais aussi en milieu communautaire donc une utilisation abusive des antibiotiques.

5.2.4 Résistance aux autres antibiotiques des isolats :

Notre étude a révélé une résistance élevée des isolats à la Triméthoprime-sulfamide de 83% des isolats. Ce résultat est supérieur à celui rapporté par **Erb et al.[64]** en 2018 dans un hôpital de soins tertiaires qui ont rapporté un taux de 24,5% pour la Triméthoprime-sulfamide

Cette différence pourrait s'expliquer par la fréquence de prescription en fonction des pays et en fonction des patients et la prise abusive de cette molécule par les patients.

Nous avons observé un faible taux de résistance à la fosfomycine et la Tigécycline avec 3% des cas et aucune résistance à la nitrofurantoïne.

Ce résultat est comparable à celui obtenu par **Erb et al.[64]** qui ont rapporté respectivement 0,9% et 1,5% pour la fosfomycine et la nitrofurantoïne.

Cette similarité peut s'expliquer par le fait que ces molécules sont faiblement résistantes à *E. coli*.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

5.3 Phénotypes de résistance aux antibiotiques des isolats de *E. coli* :

5.3.1 Phénotypes de résistance aux β -lactamines des isolats de *E. coli*:

Durant notre étude nous avons enregistré une expression des différents phénotypes de β -lactamines de 62,9% pour BLSE ; 22,9% pour la PHN ; 11,4% pour la phénotype sauvage et 2,9% pour le phénotype Case. En 2017, à Antananarivo, **Rakotovao-Ravahatra et al.[5]** ont obtenu une fréquence de BLSE et de phénotype sauvage inférieurs aux nôtres soit respectivement 22,5% et 5,9% des cas. Cette différence pourrait s'expliquer par le type d'échantillon et la population d'étude.

Nous avons observé la présence des BLSE de type *CTX-M 1*, *TEM* et *SHV*. Il nous est révélé la présence des gènes *TEM* sur tous les isolats de BLSE obtenus soit un taux de 100%. Ce résultat est différent de celui révélé par **Diagne et al.[65]** au Sénégal en 2019 qui ont enregistré un taux de 28,12 % de BLSE de type *TEM*. Cette différence peut s'expliquer par l'écologie locale.

Par contre nous avons obtenu des BLSE de type *CTX-M 1* avec un taux de 64% des BLSE, et le BLSE de type *SHV* représentait 5% des BLSE.

Azar Dokht et al. [66] ont rapporté en 2013 en Iran un taux de 26,92% des BLSE de type *CTX-M* et 46.15% pour le BLSE de type *SHV* différent du nôtre. Ces différences peuvent s'expliquer par la différence des isolats étudiés et la fréquence d'isolement des germes.

5.3.2 Phénotype de résistance aux aminosides des isolats de *E. coli* :

Pour les aminosides le phénotype d'imperméabilité exprimait 9% des isolats. Ce résultat est superposable à celui rapporté par **Gamal Gad et al.[67]** en 2011 à l'hôpital universitaire de Minia de Haute-Égypte qui ont rapporté 20% pour le phénotype d'imperméabilité. Ce phénotype d'imperméabilité pourrait être expliqué par une utilisation de certaines molécules de cette famille des aminosides dans les traitements probabilistes de nombreuses infections en milieu hospitalier et communautaire.

5.3.3 Phénotype de résistances aux quinolones des isolats de *E. coli* :

Au cours de notre étude nous avons retrouvé que 26% de nos isolats exprimait un phénotype sauvage et 54% exprimait un phénotype mixte. En 2014 au Cameroun **Kamga et al[6]** ont obtenu un résultat différent de notre avec 34,95% pour le phénotype sauvage et 28,20% pour

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

le phénotype mixte. Cette différence pourrait s'expliquer par le moment et le lieu de réalisation des études.

5.4 Gènes associés à la résistance aux antibiotiques des isolats de *E. coli*:

Notre étude a révélé la prédominance des gènes *TEM* (100%), suivi *CTX-M-1* (71%), et *SHV* (14%). Nos résultats diffèrent de ceux de **Trupti et al.** en 2021[68] dans un hôpital de soins tertiaires qui ont rapporté *TEM* (48,7%), suivi de *CTX-M-1* (7,6%) et de *SHV* (5,1%).

Cette différence peut s'expliquer par la spécificité des gènes et leur mode de sélection aux germes isolés

Au cours de notre étude nous n'avons pas enregistré de présence de gène *AAC* associés à la résistance aux aminosides.

✓ Gènes associés à la résistance aux quinolones des isolats de *E. coli*:

Pour les quinolones nous avons enregistré la présence des gènes *Qnr A*, *Qnr B* et *Qnr S* qui était respectivement de l'ordre de : 9%, 57% et 83% .

Nos proportions sont différentes de celles rapportées par **Guessennd et al.**[69] en 2008 en Côte d'ivoire qui ont rapporté *Qnr B* (14,6 %)), *Qnr A* (9,9 %) et *Qnr S* (2,7 %).

5.5 Présence de gènes associés à la résistance aux antibiotiques :

5.5.1 Présence de gènes associés à la résistance aux β -lactamines :

Au cours de notre étude partout où il y a la résistance aux disques des bêtalactamines nous avons observé la présence du gène *TEM*, le gène *CTX-M 1* était présent dans plus de la moitié des molécules testées et les gènes *SHV* était faiblement représenté.

5.5.2 Présence de gènes associés à la résistance aux Quinolones :

Le gène *Qnr S* était le plus représenté avec plus de 50% des cas de résistance aux quinolones par contre le gène *Qnr A* était le moins représenté.

**Conclusion et
recommandations**

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

6 Conclusion et recommandations :

6.1 Conclusion :

Pendant notre période d'étude nous avons isolé : 35 isolats de *Escherichia coli* uropathogènes dont la majorité étaient des femmes (22), la tranche d'âge la plus représentée était de 16-30 ans. Le test de sensibilité aux antibiotiques nous a montré que : l'imipénème, l'Ertapénème et l'amikacine conservent mieux leur activité antibactérienne sur les isolats de *E. coli*. Par contre l'activité de certaines sous famille de bêtalactamine devient de plus en plus faible sur les isolats avec une fréquence de résistance allant jusqu'à 89%. L'étude moléculaire par PCR nous a permis de déterminer la présence de gènes associés à la résistance pour chaque famille d'antibiotique mais aussi de faire un lien entre phénotype et gène associé à la résistance. Ceci nous a montré une forte présence des **BLSE de type TEM**.

Une surveillance continue de la résistance de ces bactéries et des préventions sont essentielles pour prévenir et limiter la dissémination des supports de la résistance chez ces bactéries.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

6.2 Recommandations :

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes :

Au Ministère de la Santé et du développement social

Réglementer la vente des antibiotiques en arrêtant l'automédication ;

Renforcer la surveillance de la résistance aux antimicrobiens ;

Sensibiliser la population et les professionnelles de la santé sur les dangers liés à l'usage inappropriée des antibiotiques ;

Aux cliniciens :

Respecter la classification AWARE tout en tenant compte de l'écologie locale lors de la prescription ;

Demander un antibiogramme devant toute suspicion d'infection

Aux chercheurs :

Associer la recherche des gènes en cas de multirésistances dans les antibiogrammes.

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

REFERENCES

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

7 Références

1. **Dembélé M.** Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les urines au service bactériologie de l'INSP de 2016 à 2018. Thèse de pharmacie. USTTB; 2020 P 116
2. **Sylla MB.** Infections invasives à *Escherichia coli* dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré. Thèse pharmacie. USTTB; 2006 P 83
3. **Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kieffer N, Nordmann P et al.** Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. Aarestrup FM, Schwarz S, Shen J, Cavaco L, éditeurs. Microbiol Spectr. 27 juill 2018;6(4):6.4.14.
4. **Tagajdid MR, Boumhil L, Iken M, Adnaoui M, Benouda A.** Etude de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. Médecine et maladies infectieuses. 2010;40(2):70-3.
5. **Rakotovao-Ravahatra ZD, Randriatsarafara FM, Rasoanandrasana S, Raverohanta L, Rakotovao AL.** Phénotypes de résistance des souches de *Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. The Pan African Medical Journal Internet. 2017
6. **Kamga HG, Nzengang R, Toukam M, Sando Z, Shiro SK.** Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). Afr J Pathol Microbiol. 2014;3:1-4.
7. **Diallo MA.** Profil des résistances des antibiotiques aux souches bactériennes isolées au niveau du laboratoire de l'hôpital mère-enfant Naomi Harris de Kayes. Thèse pharmacie. USTTB; 2023 P 119
8. **Pilly E.** Maladies Infectieuses et Tropicales. 21e édition. Paris Vivactis Plus. 2008;
9. **Zahir H, Draiss G, Rada N, Abourrahouat A, Ait sab I, Sbihi M, et al.** Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. Revue Francophone des Laboratoires. 1 Avr 2019;2019(511):65-70.
10. **Mariko M, Sow DS, Traoré B, Traoré A, Traoré D, Dabo G et al.** Profil Bactériologique de l'Infection Urinaire chez les Diabétiques à l'Hôpital du Mali (Bamako). HEALTH SCIENCES AND DISEASE Internet. 2021 [cité 3 avr 2024];22(2).
11. **Fofana CO.** Etude des profils bactériologiques des infections nosocomiales au service d'accueil des Urgences du CHU Gabriel TOURE Thèse de médecine. USTTB; 2023 P 160
12. **Pour M.** Infections nosocomiales en milieu de réanimation au CHU Gabriel Toure: profil épidémiologique, clinique et bactériologique. 2008;
13. **Lobel B, Soussy C.** Les infections urinaires Internet. Springer science & Business media; 2007 [cité 5 avr 2024].

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

14. **Nihad L.** Profil de résistance aux antibiotiques de *Escherichia Coli* issues des infections urinaires Internet [PhD Thesis]. university center of abdalhafid boussouf-MILA; 2021 [cité 27 avr 2024].
15. **Keita AN.** Apport de l'uroscanner dans la Pathologie de l'appareil urinaire Thèse médecine Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2019 P 91
16. AlloSchool. Séance 24 - Organisation de l'appareil urinaire - Cours (Partie 1) -AlloSchool Internet. [cité 9 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.alloschool.com/element/120404>
17. **Thirion DJ, Williamson D.** Les infections urinaires: une approche clinique. Pharmactuel Internet. 2003 [cité 5 Avr 2024];36(5).
18. **Doumbia A.** Contribution de la chimie urinaire dans le diagnostic des infections urinaires au au laboratoire du CHU du point G.Thèse pharmacie Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako; 2022 P 81
19. AquaPortail Internet. [cité 26 juin 2024]. Entérobactérie : définition et explications. Disponible sur: <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/2473/enterobacterie>
20. **Dembélé M.** Fréquence d isolement des souches d'Escherchia coli au laboratoire de l hôpital Gabriel Touré de février 2002 a décembre 2004. Thèse. Université de Bamako; 2006 P 115
21. **Sissoko AD.** Sensibilité et évolution de la résistance de *Escherichia coli* aux antibiotiques au centre hospitalier et universitaire du Point G de 2005 -2007 P 95
22. **Mahamat A, Daurès JP, Sotto A.** Évaluation de la relation consommation de fluoroquinolones et émergence de résistance chez *Escherichia coli*: rôles respectif et comparatif des études observationnelles et quasi expérimentales. Médecine et maladies infectieuses. 2005;35(11):543-8.
23. **Durand G, Van Belkum A.** Taxonomie bactérienne à l'heure des technologies nouvelles de la taxonomie polyphasique à la taxogénomique. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. 2016;253.
24. **BATRA S.** MORPHOLOGY AND CULTURE CHARACTERISTICS OF *Escherichia coli* BACTERIOLOGY NOTES.
25. **Tripathi N, Sapra A.** Gram Staining [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2021 [cited 2022 May 23].
26. Pinterest [Internet]. [cité 26 juin 2024]. Pinterest.
27. **Meziani M, Benlabed K.** Analyse moléculaire et étude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées au CHU de Constantine. [Thesis]. Université Frères Mentouri - Constantine 1; 2021
28. Gélose Drigalski - [Internet]. [cité 26 juin 2024]. Disponible sur: <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-drigalski>

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

29. **Sihem M.** Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*). [cité 25 févr 2024];
30. **Tounkara N.** Sérotypage des souches de *Escherichia coli* isolés par coproculture aux CHU du Point « G ».thèse pharmacie. USTTB; 2023 P 106
31. **Sidibé M.** Caractérisation des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella spp* multiresistantes isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement au Irm de Bamako Thèse pharmacie USTTB; 2023 P172
32. **Savoie F.** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments PhD Thesis. Université de Bourgogne; 2011
33. **Robbins JB, McCracken GH, Gotschlich EC, Ørskov F, Ørskov I, Hanson LA.** *Escherichia coli* K1 Capsular Polysaccharide Associated with Neonatal Meningitis. N Engl J Med. 30 mai 1974;290(22):1216-20.
34. **Dembélé M.** Fréquence d isolement des souches d'Escherichia coli au laboratoire de l hôpital Gabriel Touré de février 2002 a décembre 2004. thèse pharmacie. Université de Bamako; 2006 P 115
35. **Freney J, Leclercq R, Renaud F, Riegel P.** Précis de bactériologie clinique. In: Précis de bactériologie clinique. 2007. p. 1779-1779.
36. **Mankin KR, Wang L, Hutchinson SL, Marchin GL.** *Escherichia coli* sorption to sand and silt loam soil. Transactions of the ASABE. 2007;50(4):1159-65.
37. Pinterest Internet. [cité 26 juin 2024]. Most Dangerous Pathogens for Humans and Animals in Europe. Disponible sur: <https://www.pinterest.com/pin/most-dangerous-pathogens-for-humans-and-animals-in-europe--388154061625240069/>
38. **Koné B.** Profils de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* et *Salmonella spp* isolées dans des infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans en milieu communautaire: cas du CSCOM de Yirimadjo, Bamako.. Thèse pharmacie. USTTB; 2023 P 126
39. **Cristian C.** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. TEC & DOC Lavoisier, Paris. 2008;76-86.
40. **Belouni R, Benslimani A, Ramdani Bouguessa N et Meghier...** -google scholar Internet. [cité 25 févr 2024].
41. **Agregé S, Belguith J, Hadiji R.** Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine vétérinaire. Ecole Nationale de médecine vétérinaire Sidi thabet. 2015;
42. Bing Internet. [cité 5 mars 2024]. **Yala D, Merad A S, Mohamedi D et Ouar korich M N.** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du maghreb, 2001 ; n°91.
43. **Kansaye H.** Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de pus, d'hémoculture et de selles au CHU du point G Thèse pharmacie. USTTB; 2020 P 99

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

44. La famille des β -lactamines Internet. La famille des β -lactamines. [cité 1 janv 2024]. Disponible sur: <https://hakeem31.blogspot.com/2019/11/antibiotique la famille des beta-lactamines.html>
45. Céphalosporine : définition et explications internet. [cité 26 juin 2024].
46. Structures of gentamicin, kanamycin, streptomycin, and neomycin.... Internet. [cité 26 juin 2024].
47. Polymyxines - Colistine : Présentation, Utilisations, Mécanisme d'action et Résistances Internet. [cité 26 juin 2024]. Disponible sur: <https://microbiologie-clinique.com/polymixine.html>
48. Tétracyclines Connaissances médicales concises [Internet]. [cité 26 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.lecturio.com/concepts/tetracyclines/>
49. **Bryskier A.** Fluoroquinolones (I). Classification, propriétés physicochimiques, activités antibactériennes et pharmacocinétiques. Encyclo Méd Chir Maladies Infectieuses. 1999;8-004.
50. Fluoroquinolones Connaissances médicales concises [Internet]. [cité 26 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.lecturio.com/concepts/fluoroquinolones/>
51. **Poole K.** Resistance to β -lactam antibiotics. CMLS, Cell Mol Life Sci [Internet]. août 2004 [cité 5 mars 2024];61(17). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-004-4060-9>
52. **Aya F.** L'étude de la résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées de différents prélèvements pathologiques à l'hôpital El-Hakim Saâdan-Biskra.
53. Bing [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Lozniewski.A et al., (2010). Résistance Bactérienne Aux Aantibiotiques. CCLIN Sud-Est.
54. FH. Mécanismes de résistance aux agents anti-infectieux antibiotiques [Internet]. 2022 [cité 1 janv 2024].
55. **Abir R.** Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses PhD Thesis. 2014.
56. **Faure S.** Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique PhD Thesis. Université Rennes 1; 2009
57. **Saye T.** Prévalence des entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi au CHU du Point G de 2006 à 2008. 2012
58. **Koné B.** Profils de résistance aux antibiotiques des souches Escherichia coli et Salmonella spp isolées dans des infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans en milieu communautaire : cas du CSCom de Yirimadjo, Bamako. Thèse pharmacie. USTTB; 2023 P 126

**Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli*
uropathogènes isolés dans la région de Kayes**

59. CASFM2023_V1.0.pdf Internet. [cité 9 juin 2024]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf
60. **Vazouras K, Velali K, Tassiou I, Anastasiou-Katsiardani A, Athanasopoulou K, Barbouni A, et al.** Antibiotic treatment and antimicrobial resistance in children with urinary tract infections. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2020;20:4-10.
61. **Bouassida A, Asli MS, Barguellil F.** Epidémiologie des infections urinaires communautaires chez l'enfant et résistance bactérienne aux antibiotiques. *Revue Tunisienne de Biologie Clinique*. 2021 [cité 19 juill 2024];28(2).
62. Bases génétiques de la résistance enzymatique de *E. coli* aux aminosides - ScienceDirect Internet. [cité 14 juill 2024].
63. **R. Dehbanipour et al.** Prévalence élevée de souches d'*Escherichia coli* résistantes aux fluoroquinolones isolées à partir d'échantillons cliniques d'urine - PMC Internet. [cité 14 juill 2024].
64. **Erb S, Frei R, Sutter ST, Egli A, Dangel M, Bonkat G, et al.** Basic patient characteristics predict antimicrobial resistance in *E. coli* from urinary tract specimens: a retrospective cohort analysis of 5246 urine samples. *Swiss Medical Weekly*. 15 nov 2018;148(4546):w14660-w14660.
65. **Diagne R.** Recherche de gènes BLSE de type TEM, SHV, et OXA-1 sur des souches de *E. coli* isolées au laboratoire de Bactériologie de Fann, Sénégal. *Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique/Sciences de la Santé* Internet. 2019 [cité 19 juill 2024];1(1).
66. **Khosravi AD, Hoveizavi H, Mehdinejad M.** Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* Encoding Genes for Ctx-M-1, Tem-1 and Shv-1 Extended-Spectrum Beta Lactamases (ESBL) Enzymes in Clinical Specimens. *Jundishapur J Microbiol* Internet. 2013 [cité 20 juill 2024];6(10).
67. **Gad GF, Mohamed HA, Ashour HM.** Aminoglycoside Resistance Rates, Phenotypes, and Mechanisms of Gram-Negative Bacteria from Infected Patients in Upper Egypt. *PLOS ONE*. 17 févr 2011;6(2):e17224.
68. **Bajpai T, Pandey M, Varma M, Bhatambare GS.** Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. *Avicenna Journal of Medicine*. 9 août 2021;07:12-6.
69. **Guessenn N, Bremont S, Gbonon V, Kacou-NDouba A, Ekaza E, Lambert T, et al.** Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie*. 1 nov 2008;56(7):439-46.

Annexes

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Annexes :

FICHE SIGNALITIQUE

NOM : TIMBELY

PRENOM : Amadou

TEL : (00223) 75813088 et 64330634

ADRESSE : timbelyamadou12@gmail.com

TITRE DE LA THESE : Profil de résistance phénotypique et génotypique des souches de *Escherichia coli* uropathogènes isolées dans la région de Kayes.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2023-2024

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la faculté de pharmacie (FAPH)

SECTEUR D'INTERET : Bactériologie, Santé publique, surveillance épidémiologique

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Résumé :

L'infection du tractus urinaire constitue un véritable problème majeur de santé publique. Les infections liées à *Escherichia coli* demeurent un problème, surtout dans les pays en voie de développement où la couverture sanitaire est faible. Elles représentent une préoccupation du fait de leur diversité, du nombre de patients touchés et d'une augmentation de la résistance acquise à certaines classes d'antibiotiques.

Objectif : Le but de notre travail était d'évaluer le profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *E. coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes.

Méthodes : L'isolement des isolats de *E. coli* a été réalisé sur la gélose de Drygalski. L'antibiogramme a été effectué par la méthode des disques sur la gélose de Mueller-Hinton. La détermination des gènes a été faite par la PCR conventionnelle.

Résultats : Au total 35 isolats de *E. coli* ont été isolés des urines au laboratoire de biologie médicale de Kayes de septembre 2023 au mois de février 2024.

Les pénicillines ont été les molécules les moins actifs avec une résistance allant jusqu'à 89%. Les carbapénèmes étaient sensibles à 100%. La tobramycine était la moins active des aminosides avec 69% de résistance. L'ofloxacine a donné une résistance dans 71% des cas. Le phénotype BLSE a été le plus représenté avec 62,9% suivis du Pénicillinase de haut niveau avec 22,9% des souches isolées. Parmi les aminosides, le phénotype sauvage représentait 29% des souches testées. Pour les quinolones nous avons déterminé : phénotype sauvage (54%) et phénotype mixte (26%).

Les gènes *CTX-M 1*, *TEM* et *SHV* ont été respectivement retrouvé à 71%, 100% et 14% chez les souches de *E. coli*. Les gènes associés à la résistance aux quinolones qui ont été remarqué sont : *Qnr A* (9%), *Qnr B* (57%) et *Qnr S* (83%). Nous avons obtenu des BLSE de type *TEM* (100%), de type *CTX-M 1* (64%) et de type *SHV* (5%).

Mots clés : Phénotype, génotypes, résistance, *Escherichia coli*, uropathogènes.

Profil de résistance phénotypique et génotypique des isolats de *Escherichia coli* uropathogènes isolés dans la région de Kayes

Abstract:

Urinary tract infection is a real major public health problem. *Escherichia coli* infections remain a problem, especially in developing countries with low health coverage. They are a concern because of their diversity, the number of patients affected and an increase in acquired resistance to certain classes of antibiotics.

Objective: The aim of our work was to evaluate the phenotypic and genotypic resistance profile of uropathogenic *E. coli* strains isolated in the Kayes region.

Methods: Isolation of *E. coli* strains *E. coli* was performed on Drygalski agar. Antibiotic susceptibility testing was performed using the disc method on Mueller-Hinton agar. The determination of the genes was done by conventional PCR.

Results: A total of 35 strains of *E. coli* were isolated from urine at the medical biology laboratory in Kayes from September 2023 to February 2024.

Penicillins were the least active molecules with a resistance of up to 89%. Carbapenems were 100% sensitive. Tobramycin was the least active of the aminoglycosides with 69% resistance. Ofloxacin gave resistance in 71% of cases. The ESBL phenotype was the most represented with 62.9% followed by high-level penicillinase with 22.9% of the isolated strains. Among the aminoglycosides, the wild phenotype accounted for 29% of the strains tested. For quinolones we have determined: wild phenotype (54%) and mixed phenotype (26%).

The *CTX-M 1*, *TEM* and *SHV* genes were found at 71%, 100% and 14% respectively in *E. coli* strains. The genes associated with quinolone resistance that have been noticed are: *Qnr A* (9%), *Qnr B* (57%) and *Qnr S* (83%). We obtained *TEM* (100%), *CTX-M 1* (64%) and *SHV* (5%) ESBLs.

Keywords: Phenotype, genotype, resistance, *Escherichia coli*, uropathogens.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure.