

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO
FACULTE DE PHARMACIE



U.S.T.T.B



ANNEE UNIVERSITAIRE 2022-2023

N°.....

THESE

**SEROTYPAGE ET SENSIBILITE DES SOUCHES
D'*Escherichia coli* ISOLEES DES SELLES AU CHU DU
POINT « G » DE 2020-2021**

Présentée et soutenue publiquement le 20/10/2023 devant la Faculté de Pharmacie par :

M. N'FALY TOUNKARA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Jury

Président du jury :	Professeur Ousmane KOITA
Membres :	Professeur Djibril Mamadou COULIBALY Docteur Oumar AGALI DICKO
Co-directeur de thèse :	Docteur Mohamed AG BARAÏKA
Directrice de thèse :	Professeur Aminata MAIGA

DEDICACES

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

- **A mon père : Mr MODIBO TOUNKARA**

Cher papa, les mots seuls ne pourraient exprimer l'affection, l'amour et le profond respect que je te porte.

Tu m'as appris à aimer le travail. Je voudrais t'exprimer toute ma profonde gratitude. Je ne saurais te remercier pour tout ce que tu as fait et continue de faire pour moi. Tu as toujours donné le meilleur de toi-même pour la réussite et le bonheur de tes enfants. Tu nous as appris le sens de l'honneur, de la dignité, de la morale, de la justice, de la patience et de la tolérance. Tous les efforts inestimables dont tu as fait preuve durant tout notre cursus scolaire et universitaire ; et je m'en réjouis et je ne cesserai de te gratifier du soutien financier, physique, moral et psychique que tu m'as témoigné durant plusieurs années. Que ce travail soit une récompense de tous les efforts et sacrifices fournis. Que le SEIGNEUR te récompense.

- **A ma mère : Mme OUMOU KEITA**

Femme battante, généreuse, aimable, sociable, bonne conseillère avec tout le monde ; merci de m'avoir guidé, de m'avoir accompagné dans les premiers pas, de m'orienter sur le sens du bon travail, le travail bien fait, le partage et l'amour pour son prochain et tout le savoir et l'éducation que tu nous as appris. Tes sacrifices pour tes enfants et les enfants d'autrui ont fait de nous ce que tu as souhaité.

Maman chérie, merci pour tous les plaisirs, la tendresse, la compréhension, les sourires et l'amour que tu m'as toujours donnés.

Très chère mère ce travail est le fruit de tout le labeur que tu as abattu depuis ma tendre enfance. Que le SEIGNEUR te récompense

- **A ma femme MARIAM KEITA**

Ma femme mon amie, mon confident, ma sœur, ma moitié ; Ce travail est également le fruit de tes prières, de ta patience, encouragements et surtout de ta compréhension. Un grand merci. Que le Tout le Puissant nous garde unis pour l'éternité.

Ma famille

Unis par le lien de sang, nous sommes appelés à œuvrer ensemble pour la réussite de la tâche commune.

Je te réaffirme mon affection mon affection et mon profond attachement.

Ma belle famille

Qui a cru en moi sans preuve, ni attachement.

Votre sympathie et votre soutien moral m'ont été appui inestimable pour ce travail.

Trouvez ici l'expression de toute ma gratitude.

- **A mes frères et sœurs :**

Feu GNAME, Dr Moussa TOUNKARA, Sekou TOUNKARA et Abdoul karim TOUNKARA ;

Abisetou TOUNKARA et Sama TOUNKARA ;

Je ne sais comment vous exprimer ma gratitude pour ce que vous avez fait pour moi.

Grâce à votre soutien familial indéfectible, je ne me suis jamais senti seul dans mon combat ; vos sacrifices pour la réalisation de ce travail me sont inestimables. Vous êtes des sœurs formidables Chacune de vous de par ses qualités a été pour moi une source d'inspiration. Vous avez été pour moi une force indispensable à l'acquisition de ce diplôme. Les phrases me manquent en ce moment pour vous exprimer ma grande reconnaissance et mon admiration profonde. Que le Seigneur resserre nos liens. Je vous porte toutes très fortement dans mon cœur, merci pour vos encouragements. Ce travail est le vôtre ;

- **A mes frères de cœur Adama MARIKO, Amadou TEMBELY et Mady KEITA**

J'ai passé tous ces moments de la faculté à vos côtés. J'avoue que j'ai partagé de ces instants de galère avec vous que je ne pourrais oublier. Ces moments m'ont aidé à me forger un caractère d'homme réaliste et optimiste, aussi, j'ai passé des moments très agréables avec Vous qui vont sans nul doute me manquer.

Avec vous, j'ai vu les défis de la vie se transformer en acquis. Grand merci à vous tous. Vous êtes plus que des amis, vous êtes de la famille.

- **A monsieur Mouctar SYLLA**

Tu as été d'un soutien infailible, merci pour ton écoute, tes conseils plus qu'un ami tu es frère.

- **A mes oncles maternels merci pour tout.**

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements s'adressent :

- **A L'ETERNEL DIEU**

Pour la santé, la force, la patience et le courage que tu m'as donné et qui m'ont permis de surmonter les difficultés rencontrées lors de ma formation et de la réalisation de cette thèse.

- **Docteur Oumar AGALY DCKO, Docteur Diarra Youssouf, Docteur Lassana DOUMBIA, Docteur Guillaume DEMBELE, Docteur Ibrahima DIOP et Docteur Drissa BOUARRE**

Vous avez été plus que des encadreurs pour moi ; ce travail est aussi le vôtre, merci d'être ces aînés généreux disponible aimable et pour votre soutien. Que le tout puissant vous le rende au centuple.

- **Au Dr Drissa KONE,**

Cher maître, merci infiniment pour vos conseils, votre soutien, votre aide sans limite, votre disponibilité indéfectible et votre sens du travail bien abattu. Sentez-vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté.

- **A l'ensemble du personnel du laboratoire du CHU Point « G »,**

Merci pour l'apprentissage.

- **A tous mes amis,**

LES VRAIS, je ne vous remercierai jamais assez pour cette présence à mes côtés durant ces moments joyeux comme difficiles. Votre grand cœur est un don du ciel. Que le bon Dieu vous réserve le meilleur.

- **A mes aînés de la pharmacie et d'ailleurs,**

Merci pour l'encadrement que vous m'avez accordé pour que je réussisse ma première année, je m'en souviendrai toujours.

- **A mes cadets de la pharmacie et d'ailleurs,**

Merci pour votre disponibilité et beaucoup de courage dans vos études.

Aux personnels du LBMA

Merci pour votre accueil, votre collaboration et votre disponibilité.

Ce travail est aussi le vôtre !

Grand merci pour tout ce que j'ai appris et que je continue d'apprendre avec vous.

- **Au Dr Ramata DIALLO, promotrice de la pharmacie KOMOGA,**

Je vous dis un grand merci pour votre accueil et cette place que vous m'avez offert dans votre établissement. Je ne saurais jamais de vous remercier assez de votre engagement et de votre soutien. Recevez tout l'honneur qui vous soit rendu.

- **A l'ensemble du personnel de la pharmacie KOMOGA,**

Merci pour vos encouragements, vos respects et vos enseignements.

- **A mes maitres de la faculté de Pharmacie :**

Au corps professoral, au personnel du décanat de la Faculté de Pharmacie de Bamako, Merci pour l'encadrement exemplaire.

- **Aux membres de la Promotion Feu Pr Drissa DIALLO :**

A tous mes collègues de la 14ème promotion du numerus clausus, j'ai tissé de bon lien avec vous et j'espère que nous continuerons cette sincère collaboration dans la vie professionnelle.

A Tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de ce travail, recevez ici toute ma gratitude et ma reconnaissance éternelle.

Je tiens également à remercier :

- **Tous mes différents groupes d'étude,**
- **Tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer**
- **Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail**

**HOMMAGES
AUX
MEMBRES DU JURY**

À Notre Maître et présent du jury : Professeur Ousmane KOITA

- Pharmacien Biologiste (PharmD, PhD) ;
- Professeur titulaire de Parasitologie Moléculaire ;
- Responsable des cours de Biologie Moléculaire appliquée à la Faculté des Sciences et Techniques (FST) et Biologie Animale à la Faculté de Pharmacie (FAPH) ;
- Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA) ;
- Ancien Directeur Adjoint du programme SEREFO ;

Cher maître,

Permettez-nous de vous remercier pour honneur que vous nous faites, en acceptant de présider notre jury de thèse. Nous avons admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines tout au long de notre formation. Votre modestie et votre caractère scientifique élevé font de vous un maître exemplaire. Veuillez accepter cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

Que dieu vous donne une longue vie !

A NOTRE MAITRE ET JUGE : Professeur Djibril Mamadou COULIBALY

- Pharmacien biologiste.
- Titulaire d'un Master de Biochimie Génie-Génétique.
- Titulaire d'un DES en Biologie Clinique.
- Titulaire d'un master en pédagogie en science de la santé
- Maitre de conférences en Biochimie Clinique à la Faculté de Pharmacie.
- Praticien hospitalier au laboratoire du CHU du Point « G ».

Cher Maître,

Permettez-nous de vous remercier pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité. Votre simplicité et votre caractère scientifique élevé font de vous un Maître exemplaire. Veuillez croire cher Maître, en l'expression de notre profonde gratitude.

A Notre Maître et Juge : Docteur Oumar AGALY DICKO

- Pharmacien Biologiste (DES-BC) ;
- Chef d'unité Microbiologie au laboratoire de CHU du Point « G » ;
- Praticien hospitalier au laboratoire du CHU du Point « G ».

Cher maître,

Nous ne saurons jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à ce travail, mais aussi, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger cette thèse. Veuillez accepter cher maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A Notre Maître et Co-directeur de thèse : Docteur Mohamed AG BARAÏKA

- Pharmacien Microbiologiste ;
- Maître -Assistant en Bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie ;
- Praticien au Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose (CRLD) ;

Cher Maître,

Nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous pour effectuer ce travail. Les mots me manquent pour vous exprimer combien cela fut un plaisir de travailler avec vous. Vous nous avez inspiré, suivi et guidé pas à pas dans l'élaboration de ce travail. Votre simplicité, votre compétence et surtout votre rigueur scientifique sont des atouts qui nous ont fascinés et dont nous avons bénéficié tout au long de notre formation. Vous n'avez ménagé aucun effort pour la belle réalisation de ce travail qui, également, est le vôtre. Soyez rassuré cher maître, de nos remerciements les plus sincères. Veuillez trouver ici cher maître l'expression de nos sentiments les plus respectueux.

A Notre Maître et Directrice de thèse : Professeur Aminata MAIGA

- Maître de conférences en Bactériologie-virologie à la FMOS de l'Université des sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;
- Chef de service du Laboratoire de Biologie médicale et de l'hygiène hospitalière du CHU du Point « G »;
- Membre du groupe de coordination multisectorielle pour la lutte contre la résistance antibactérienne (RAM) ;
- Praticienne hospitalière au laboratoire du CHU du Point « G » ;
- Membre du comité National de Certification (CNC) de l'éradication de la poliomyélite pour le Mali ;
- Chercheur au Centre de recherche et de Formation des Pathologies Moléculaires ;

Chère Maître,

Nous vous remercions pour l'accueil spontané et affectueux que vous nous avez apporté.

Vos qualités humaines, scientifiques et votre simplicité à transmettre aux autres.

Vos connaissances font de vous un maître apprécié et admiré.

Nous sommes fiers d'être compté parmi vos élèves et espérons être digne de la
Confiance que vous nous avez placées.

Soyez rassuré, cher Maître de notre entière disponibilité et de notre profonde gratitude.

Que dieu vous donne une longue vie !

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN :	L'acide Désoxyribonucléique ;
API 20E :	index Analytics profil ;
ARN :	Acide Ribonucléique ;
ATB :	Antibiotique ;
BLSE :	Bêta-lactamase de spectre étendue ;
C1G :	Céphalosporine de première génération ;
C2G :	Céphalosporine de deuxième génération ;
C3G :	Céphalosporine de troisième génération ;
C4G :	Céphalosporine de quatrième génération ;
CFTR :	Régulateur de la Conductance Transmembranaire de la fibrose kystique ;
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire ;
DAEC :	Diffuse-adhérence <i>Escherichia coli</i> ;
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i> ;
EAEC :	<i>Escherichia coli</i> Enteroagregassif;
EIEC :	<i>Escherichia coli</i> Entéroinvasifs ;
EMB :	Eosine Bleu Méthylène ;
EPEC :	<i>Escherichia coli</i> Entéropathogènes ;
EPI :	Equipement de protection individuelle ;
ETEC :	<i>Escherichia coli</i> Entérotoxinogènes ;
ETOH :	Ethanol ;
GLU :	Glucose ;
H2O :	Eau ;
H2S :	Hydrogène Sulfureux ;
IMP :	Imipenème ;
IND :	Indole ;
LAC :	Lactose ;
LBMA :	Laboratoire de Biologie Moléculaire Applique ;
LCD :	Lysine décarboxylase ;
LEE :	Locus Effacement des Entérocytes ;
LT:	Toxine thermolabile;
MAL :	Malonate ;
MLST :	Multi Locus Séquence Typing ;

NaCl :	Chlorure de sodium ;
NaCl :	Chlorure de sodium ;
NIT :	Nitrate ;
ODC :	Ornithine Décarboxylase ;
ONPG :	L'orthonitrophényl-β-galactoside ;
PDA :	Phényle Alanine Désaminase ;
PGE2 :	Prostaglandine E2 ;
PH :	Potentiel Hydrogène ;
PLP :	Protéines liant la pénicilline ;
PNPL :	Programme National de lutte contre le paludisme ;
PTT :	Purpura Thrombotique et Thrombocytopénie ;
SHU :	Syndrome hémolytique-urémique ;
ST:	Toxine thermostable;
STEC:	Shiga-toxines <i>d'Escherichia-coli</i> ;
TAE :	Tris acide acétique et EDTA ;
TBE :	Tris acide borique et EDTA ;
TDA :	Tryptophane désaminase ;
UFC :	Unité Formant Colonie ;
URE:	Urease;
USAID:	<i>United States Agency for international Development</i> ;
VIH :	Virus immuno- déficience humaine ;
VP :	Réaction de VogesProskauer ;
VT :	Vero toxine ;
VTEC :	Vero toxine <i>d'E coli</i> ;

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	2
1. OBJECTIFS	4
1.1. Objectif général	4
1.2. Objectifs spécifiques.....	4
2. GENERALITES	6
2.1. HISTORIQUE	6
2.2. CLASSIFICATION ET TAXONOMIE.....	6
2.3. DESCRIPTION ET MORPHOLOGIE D’ECHERICHIA COLI	6
2.4. CARACTERES CULTURAUX.....	9
2.5. CARACTERES BIOCHIMIQUES	9
2.6. HABITAT.....	9
2.6.1. Habitat primaire.....	9
2.6.2. Habitat secondaire	9
2.7. GENOME D’ <i>E coli</i>	9
2.8. PLASMIDES	10
2.9. REPLICATION DE L’ADN	10
2.10. POUVOIR PATHOGENE.....	10
2.11. CARACTERES ANTIGENIQUES	11
a) Antigène somatique O	11
b) Antigène flagellaire H	12
c) Antigène de surface ou d’enveloppe K.....	12
2.12. LES SEROTYPES D’ECHERICHIA COLI	12
2.12. LES PHYLOGROUPES D’ECHERICHIA COLI	13
2.13. LES PATHOVARS	13
a) <i>E coli</i> enterotoxigenes (ETEC).....	15
b) <i>E coli</i> enteropathogènes (EPEC)	17
c) <i>E coli</i> enteroaggregatifs (EAEC).....	18
d) <i>E coli</i> enteroinvasifs (EIEC).....	18
e) <i>E coli</i> enterohémorragiques (EHEC).....	18
2.14. LES ANTIBIOTIQUES	21
a) Définition :	21
2.14.1. La famille des bêta-lactamines	23
a) Généralité :	23
b) Structure :	23
c) Les sous familles des bêta-lactamines.....	23

d) Mécanisme d'action :	24
2.14.2. Aminosides	24
a) Structure :	24
b) Mécanisme d'action :	24
2.14.3. Quinolones.....	25
a) Structure	25
b) Mécanisme d'action :	25
2.14.4. Phénicolés : Chloramphénicol et Thiamphénicol :.....	25
a) Définition :	25
b) Mécanisme d'action :	25
2.14.5. Les tétracyclines	26
a) Définition :	26
b) Mécanisme d'action :	26
2.14.6. . Résistance des bactéries aux antibiotiques	26
2.14.7. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	26
a) Résistance non enzymatique.....	26
b) Résistance enzymatique	26
2.14.8. Mécanisme de résistance aux aminosides	27
2.14.9. Mécanisme de résistance aux quinolones.....	27
2.14.10. Résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatifs	27
3. METHODOLOGIE.....	29
3.1. Cadre et lieu d'étude.....	29
3.2. Description des lieux d'étude	29
3.3. Type et période d'étude	31
3.4. Population de l'étude	31
3.5. Echantillonnage	31
3.6. Critère d'inclusion	31
3.7. Critère de non inclusion.....	31
3.8. Collectes des données	31
3.9. Variables étudiées.....	32
a) Données sociodémographiques	32
b) Données bactériologiques.....	32
3.10. Matériel.....	32
a) Equipements	32
b) Matériel biologique.....	32
c) Petits matériels.....	32

d) Réactifs	33
3.11. Méthode en laboratoire	33
3.11.1. Au CHU du Point « G » : nous avons vérifiés :	33
3.11.2. Conditionnement et transport à partir du Point « G »	35
3.11.3. Au laboratoire de biologie moléculaire appliqué	35
3.11.3.1. Milieux de cultures	37
3.11.3.2. Méthode d'ensemencement	43
3.11.3.3. Extraction d'ADN	43
3.11.3.4. Polymérase Chain Réaction (PCR).....	44
3.11.3.5. Electrophorèse	48
3.12. SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES	48
4. RESULTATS	50
5. DISCUSSION	66
5.1. Résultats analytiques	66
5.1.1. Données épidémiologiques	66
5.1.2. Les pathotypes	66
5.1.3. Résistance aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli	67
5.1.4. Phénotypes de résistance	69
5.2. Difficultés et limites de l'étude	69
6. CONCLUSION	71
7. RECOMMANDATIONS	72
REFERENCES	74
FICHE SIGNALETIQUE :	83
SERMENT DE GALIEN	86

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Structure d'E coli	7
Figure 2 : Coloration de Gram.....	8
Figure 3 : Identification des Escherichia coli sur API 20 ^E	9
Figure 4: Mécanismes de pathogénicité des sept pathotypes	14
Figure 5 : Caractéristiques de l'infection ETEC	16
Figure 6 : Processus pathobiologique SHU de E. coli	20
Figure 7 : Mécanisme d'action des antibiotiques	22
Figure 8 : noyau de beta lactamine	23
Figure 9 : structure des aminosides	24
Figure 10 : structure des quinolones	25
Figure 11 : Image d'une hotte prise au laboratoire LBMA.....	36
Figure 12 : Escherichia coli sur la gélose EMB	38
Figure 13 : gélose Muller Hinton	40
Figure 14 : gélose PCA dans un flacon	42
Figure 15 : Image d'un PTC-200 Thermocycleur avec bloc alpha de puits 384.....	46
Figure 16: Répartition des patients selon le sexe.	51
Figure 17 : Répartition des patients selon les tranches d'âge en année.	52
Figure 18 : Répartition des patients selon la provenance.....	53
Figure 19: Répartition des souches E coli en fonction des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines.....	63

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Disques d'antibiotiques	34
Tableau 2 : Liste des amorces utilisées pour la classification des souches d'E. coli	47
Tableau 3 : Répartition des patients en fonction des années et de l'effectif.	50
Tableau 4 : Fréquence de la détection des gènes des pathotypes.	54
Tableau 5: Répartition des souches d'Escherichia coli selon la détection des gènes des facteurs de pathogénicité.	55
Tableau 6: Répartition des pathotypes selon le sexe.	56
Tableau 7: Répartition des pathotypes selon la tranche d'âge.	57
Tableau 8: Fréquences de la répartition des pathotypes selon la provenance.	58
Tableau 9: Répartition des souches de la sensibilité aux bêta-lactamines, aux aminosides et quinolones testés.	59
Tableau 10: Répartition des souches en fonction de la sensibilité aux autres antibiotiques testés.	60
Tableau 11: Répartition des pathotypes en fonction de la sensibilité aux Beta-lactamines...	61
Tableau 12 : Répartition des pathotypes en fonctions de la sensibilité aux autres antibiotiques testés.	62
Tableau 13: Répartition des pathotypes en fonction de la production des enzymes de résistances aux bêta-lactamines.	64

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Selon l’OMS, *Escherichia coli* figure parmi les agents pathogènes les plus courants qui touchent 600 millions de personnes chaque année et s’accompagnent de conséquences graves, voire mortelles [1]. Dans les pays en voie de développement où la couverture sanitaire est faible, les infections à *Escherichia coli* représentent une préoccupation à cause de leurs diversités et du nombre de patients touchés [2].

La létalité varie de 3 à 5 % et plus d’un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme pour les souches entérohémorragiques [3].

Escherichia coli (*E coli*) est un bacille à Gram négatif connu pour faire partie de la flore intestinale normale. Il existe des centaines de souches identifiées, entraînant un spectre de maladies allant de la gastro-entérite bénigne spontanément résolutive à l’insuffisance rénale et au choc septique et est souvent rejetée dans l’environnement par les fèces ou les effluents d’eaux usées [4;5]. Il est l’un des organismes bactériens les mieux adaptés et les plus polyvalents sur le plan pathogène [6].

Selon les mécanismes de pathogénicité impliqués, cinq classes de pathovars (ou pathotypes) sont individualisés : entérotoxigènes (ETEC), entéro-invasif (EIEC), entérohémorragique (EHEC), entéro-agrégative (EAgEC) et entéro-pathogène (EPEC) et ont été associés à des maladies diarrhéiques dans différentes régions d’Afrique, en particulier chez les jeunes enfants, les personnes séropositives et les visiteurs de l’étranger [7;8].

Des études récentes en Afrique ont révélé l’émergence inquiétante d’une résistance aux antimicrobiens et de taux élevés de portage asymptomatique d’*E coli* diarrhéogène, mais les facteurs bactériens et hôtes qui prédisposent à la maladie, ainsi que les réservoirs non humains, sont largement inconnus [9].

Des études ont montré que 20 à 60 % des voyageurs souffrent de diarrhée et 20 à 40 % des cas sont dus à ETEC. La diarrhée du voyageur à ETEC survient le plus souvent pendant les mois chauds et humides et chez les voyageurs qui voyagent pour la première fois dans le monde en développement [10].

En Afrique de l’Ouest comme à travers le monde, la résistance aux antibiotiques concerne principalement les bactéries produisant des BLSE. Au sein de la population hospitalière, la prévalence du portage de BLSE était de 10,3% au Nigeria, de 21,4% au Mali au CHU du point G et de 31,0% chez les enfants hospitalisés pour malnutrition au Niger [11].

La PCR est une avancée majeure dans le diagnostic moléculaire des micro-organismes pathogènes, y compris *E coli*. Des amorces de PCR ont été mises au point avec succès pour plusieurs catégories d'*E coli* diarrhéogènes [12]. et une technique performante pour la détection des facteurs de virulence qui sont le support de l'identification des différents pathovars *E coli* [13].

Le but de cette étude était de déterminer les sérotypes d'*E coli* intestinale et la sensibilité aux antimicrobiens.

Questions :

- Existe-t-il au Mali des sérotypes circulant d'*Escherichia coli* pathogènes dans les selles chez les adultes ?
- Quelle serait la sensibilité de ces sérotypes aux antibiotiques ?

Hypothèse 1 :

- Différents types de sérotypes d'*E. coli* circuleraient au Mali

Hypothèse 2 :

- Les sérotypes retrouvés au Mali auraient une bonne sensibilité aux antibiotiques.

1. OBJECTIFS

1.1. Objectif général

Etudier la sensibilité et les sérotypes des souches *d'Escherichia coli* isolées des selles au laboratoire du CHU du Point « G ».

1.2. Objectifs spécifiques

- ✓ Déterminer les caractéristiques socio-démographiques des patients.
- ✓ Etablir la prévalence des différents pathotypes des souches *d'Escherichia coli* isolées par coproculture.
- ✓ Déterminer la sensibilité des souches *d'Escherichia coli* isolées par coproculture aux antibiotiques testés.
- ✓ Déterminer les pathotypes multi-résistants.

GENERALITES

2. GENERALITES

2.1.HISTORIQUE

Escherichia coli a été décrit en 1885 par un pédiatre allemand, Theodor Escherich, dans les fèces d'un enfant souffrant de diarrhée [14].

Le nom *Escherichia coli* fut proposé par Castellani et Chalmers en 1919 [15].

2.2. CLASSIFICATION ET TAXONOMIE

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 :

Règne : Procaryotae Domaine : Bacteria Phylum: Proteobacteria Classe: Gammaproteobacteria Ordre: Enterobacteriales Famille : Enterobacteriaceae Tribu : *Escherichiae* Genre : *Escherichia* espece : *escherichia-coli* [16].

2.3. DESCRIPTION ET MORPHOLOGIE D'ECHEIRICHIA COLI

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 d'E coli ne sont pas mobiles, flagellée avec un arrangement de flagelles pédiatriques et non sporulée.

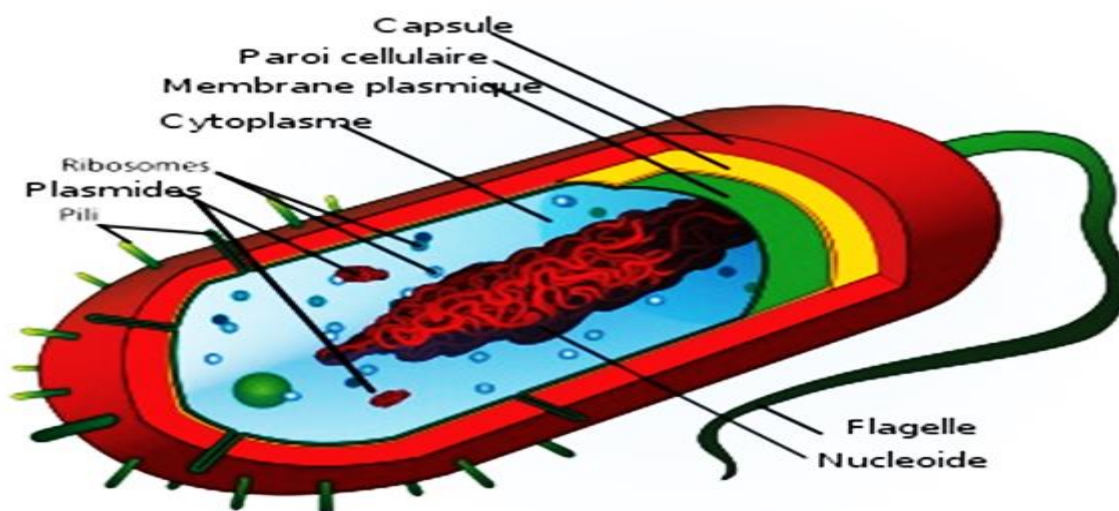


Figure 1 : Structure d'*E coli* [17].

Les capsules sont présentes dans certaines souches de l'*E coli* qui peuvent facilement être démontrées en utilisant une préparation d'encre de Chine, apparaissent comme un halo clair dans un fond sombre. *Escherichia-coli* est une bactérie Gram négatif [18].

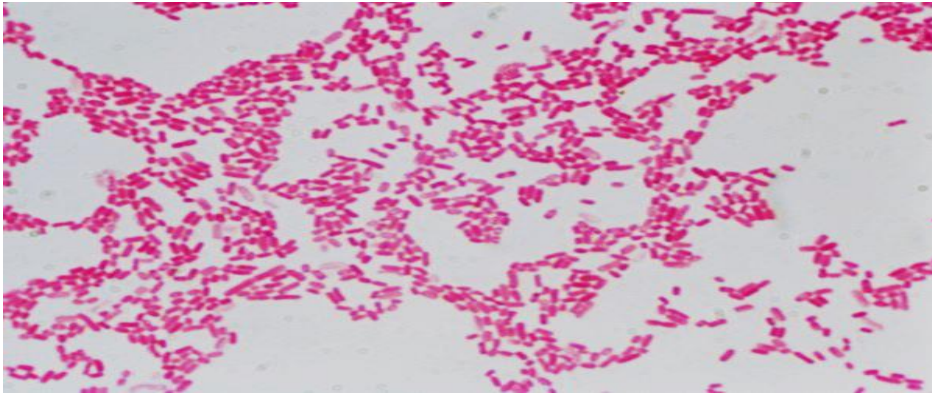


Figure 2 : Coloration de Gram (*Escherichia coli*)[19].

2.4. CARACTERES CULTURAUX

E coli pousse sur milieu ordinaire à une température optimale de 37°C. Incubées 24 heures sur gélose agar à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm avec une structure granulaire et une marge intacte. La surface est brillante et la consistance gluante [20].

2.5. CARACTERES BIOCHIMIQUES

E coli possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. Les caractères biochimiques les plus caractéristiques d'*E coli* sont :

Fermentation du glucose avec production du gaz, en général, lactose (+), indole (+) [20].

L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galerie.

Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille [21].



Figure 3 : Identification des *Escherichia coli* sur API 20^E [22].

2.6. HABITAT

E coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux dans l'intestin, *E coli* est l'espèce quantitativement, la plus importante, présente à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de selles [23].

2.6.1. Habitat primaire

Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations environ $> 10^6$ UFC (Unité Formant Colonie)/ g de contenu intestinal [24].

2.6.2. Habitat secondaire

E coli est rejeté dans l'environnement *via* les fèces à une concentration d'environ 10^8 UFC/ g de fèces [25].

2.7. GENOME D'*E coli*

E coli possède un chromosome circulaire unique, long de 4,6 Mb. Parmi ses 4 000 gènes dépourvus d'introns, environ 35% n'ont pas de fonction connue. Le cycle sexué est possible

en raison de l'action d'un plasmide extra-génomique appelé F, qui détermine un type de « masculinité ». D'autres plasmides portent des gènes dont les fonctions fournissent à la cellule ce qu'il lui faut pour vivre dans des environnements spécifiques, tels que des gènes de résistance à certaines substances chimiques. Ces plasmides ont été transformés en *vecteurs* de gènes, à la base des transferts des gènes, au cœur du génie génétique moderne[26].

2.8. PLASMIDES

Les plasmides sont définis comme étant des structures d'ADN double brin, circulaire et autonome du chromosome bactérien par rapport à leur contrôle et leur réplication. Leur taille varie de quelques kilobases à quelques centaines de kilobases. Ils peuvent être transférés horizontalement par conjugaison ou mobilisation, entre bactéries de même espèce ou non. Ce sont les éléments du génome les plus mobiles [27].

2.9. REPLICATION DE L'ADN

La réplication de l'ADN est un mécanisme très important qui permet la duplication du patrimoine génétique pour obtenir deux exemplaires identiques, chacun transmis à une des deux cellules filles lors de la division cellulaire. La réplication a donc lieu avant la division cellulaire : se fait lorsque l'ADN est à l'état de chromatine, pendant la phase S de l'interphase. Chez les eucaryotes, l'ADN est répliqué par cinq ADN polymérase α , β , γ , δ , ϵ alors que chez les procaryotes, comme *E coli*, deux enzymes sont essentielles, les ADN polymérases I et III [28].

2.10. POUVOIR PATHOGENE

Les souches pathogènes d'*E coli* utilisent un schéma de pathogénèse en plusieurs étapes semblable à celui utilisé par d'autres pathogènes des muqueuses, qui consiste en la colonisation d'un site muqueux, l'évasion des défenses de l'hôte, la multiplication et les dommages à l'hôte. La plupart des souches pathogènes d'*E coli* restent extracellulaires, mais EIEC est un véritable pathogène intracellulaire capable d'envahir et de se répliquer dans les cellules épithéliales et les macrophages. D'autres souches d'*E coli* peuvent être internalisées par les cellules épithéliales à de faibles niveaux, mais ne semblent pas se répliquer intracellulairement [29].

Une capsule, qui s'oppose à la phagocytose ; Des protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément ; Des systèmes de captation du fer (les sidérophores),

fournissent aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication et ce au détriment de la transferrine ; les adhésines, qui confèrent aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales.

L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogenèse des infections dues aux bactéries entériques.

Des toxines aux nombres de trois :

- l'endotoxine, commune aux entérobactéries
- les entérotoxines : ST (thermostables) et LT (thermolabiles).

Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydroélectrolytique. La toxine LT est proche de la toxine cholérique.

- les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxin).

Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes.

On les appelle encore des Véro-toxines (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules véro en culture [30].

2.11. CARACTERES ANTIGENIQUES

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 [31].

a) 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 d'*E coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le message de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rigoureuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O [31].

b) 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 [31].

c) Antigène de surface ou d'enveloppe K

Il existe 3 types de l'antigène K désignés par les lettres L, A ou B. $\frac{3}{4}$ 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. $\frac{3}{4}$ L'antigène A est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires) [31].

2.12. LES SEROTYPES D'*ESCHERICHIA COLI*

Le sérotype est la combinaison des 2 antigènes, somatique O et flagellaire H, (exemples : O157 :H7 et O111 :H8), alors que le séro groupe n'est déterminé que par l'antigène O (exemple : O157, O111). Cependant le sérotype n'est pas suffisant pour caractériser le *E coli* pathogène. Chaque sérotype n'est pas nécessairement corrélé à la pathogénicité [32].

Le sérotypage fondé sur la variabilité de l'antigène O est devenu la principale méthode de classification des souches d'*E coli* depuis les années 1940 et des procédures normalisées ont été élaborées. *E coli* est divisé en sérotypes définis par les antigènes O et H (flagellaires) et certains se sont avérés étroitement associés à la maladie humaine, avec une morbidité et une mortalité élevée. Par exemple, la souche de sérotype *E coli* productrice de toxines Shiga (STEC) O157:H7 est bien connue pour causer des complications potentiellement mortelles, telles que la diarrhée sanglante (colite hémolytique) et le syndrome hémolytique-urémique (SHU) [33].

Une combinaison spécifique d'antigènes O et H définit le « sérotype » d'un isolat. *E coli* de sérogroupes spécifiques peut être associé de façon reproductible à certains syndromes cliniques, mais ce ne sont généralement pas les antigènes sérologiques eux-mêmes qui confèrent la virulence. Les sérotypes et les sérogroupes servent plutôt de marqueurs chromosomiques facilement identifiables qui sont en corrélation avec des clones virulents spécifiques [34].

2.12. LES PHYLOGROUPES D'*ESCHERICHIA COLI*

Il existe une sous-structure génétique étendue au sein de l'espèce *Escherichia coli*. En 2000, une méthode simple de PCR triplex a été décrite par Clermont et ses collègues qui permet d'assigner un isolat d'*E coli* à l'un des phylo-groupes A, B1, B2 ou D. Le nombre croissant de données sur les séquences multilocus et les données génomiques sur *E coli* ont affiné notre compréhension de la structure des phylo-groupes d'*E coli* et huit phylo-groupes sont maintenant reconnus: sept (A, B1, B2, C, D, E, F) appartiennent à *E coli* sensu stricto, tandis que le huitième est le clade cryptique *Escherichia* I [35].

La classification en ST (séquence type) repose sur le séquençage de locus multiples (MultiLocus Séquence Typing, MLST) [36].

2.13. LES PATHOVARS

Les souches capables de coloniser les muqueuses sans invasion tissulaire, les souches capables de coloniser les muqueuses et de donner lieu à une intoxication systémique, les souches envahissant les muqueuses après pénétration dans les cellules épithéliales et les souches donnant lieu à une suppuration massive et/ou à une dissémination systémique, avec localisations parenchymateuses secondaires. Il est étonnant que les membres d'une seule espèce bactérienne aient été capables d'acquérir des caractères génétiques, leur permettant d'appartenir à chacun de ces pathovars.

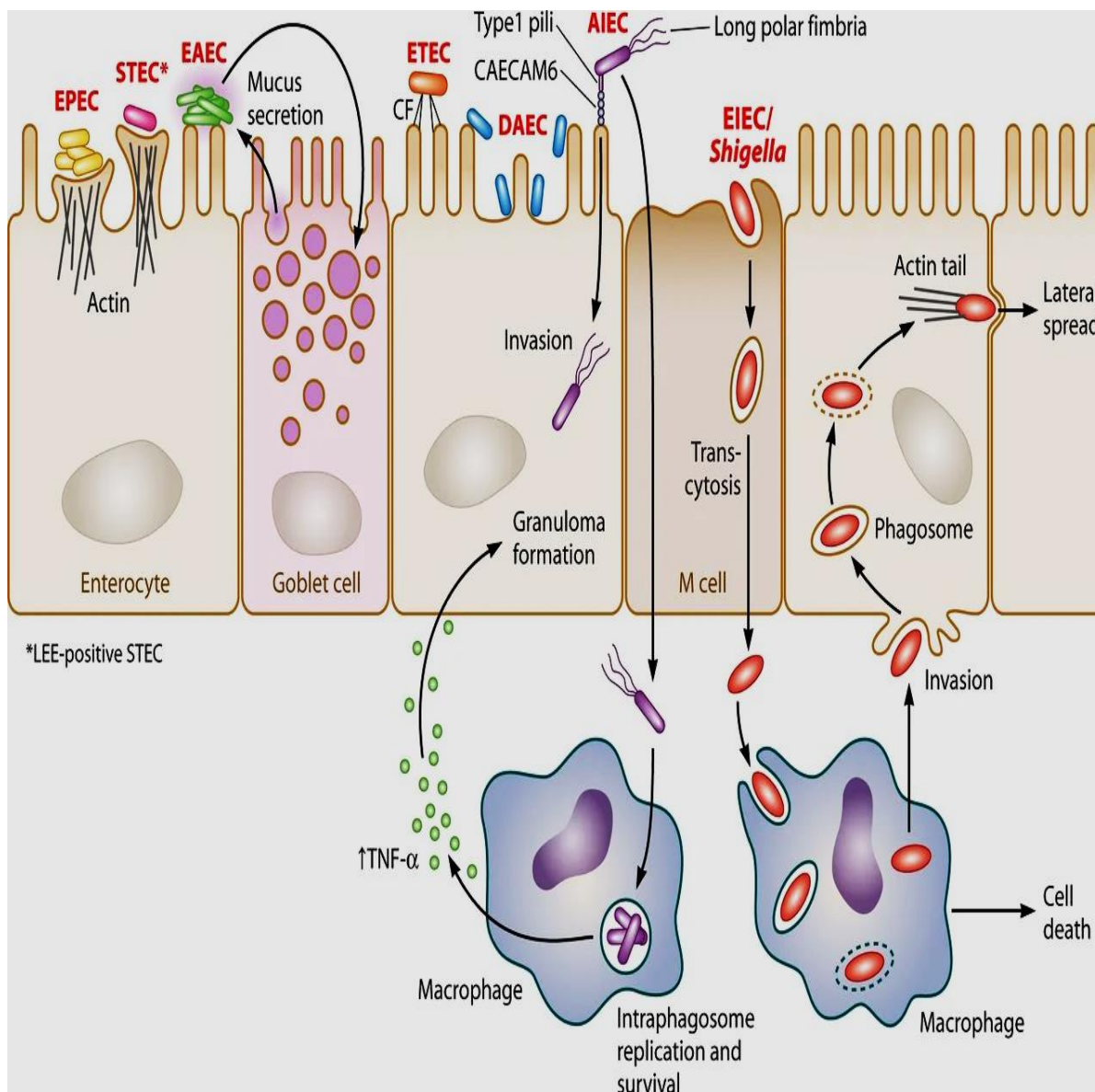


Figure 4: Mécanismes de pathogénicité des sept pathotypes [37].

a) *E coli* enterotoxigenes (ETEC)

La pathogenèse d'ETEC implique la fixation à la muqueuse intestinale médiée par une protéine fimbriale appelée CFA (antigène du facteur de colonisation) et l'élaboration d'entérotoxines thermostables et thermolabiles.

La diarrhée sécrétoire causée par ETEC se développe après une période d'incubation de 1 à 2 jours et persiste en moyenne de 3 à 5 jours.

Les symptômes (diarrhée aqueuse et non sanglante et crampes abdominales; moins fréquemment nausées et vomissements) sont similaires à ceux du choléra mais sont généralement plus légers, bien que la mortalité soit élevée chez les personnes souffrant de malnutrition et chez les personnes atteintes de maladies sous-jacentes, en particulier les enfants et les personnes âgées [38].

ETEC se caractérise par sa capacité à produire des facteurs de virulence majeurs, y compris des facteurs de colonisation (FK) et des entérotoxines, qui se lient à des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales et induisent la diarrhée [39].

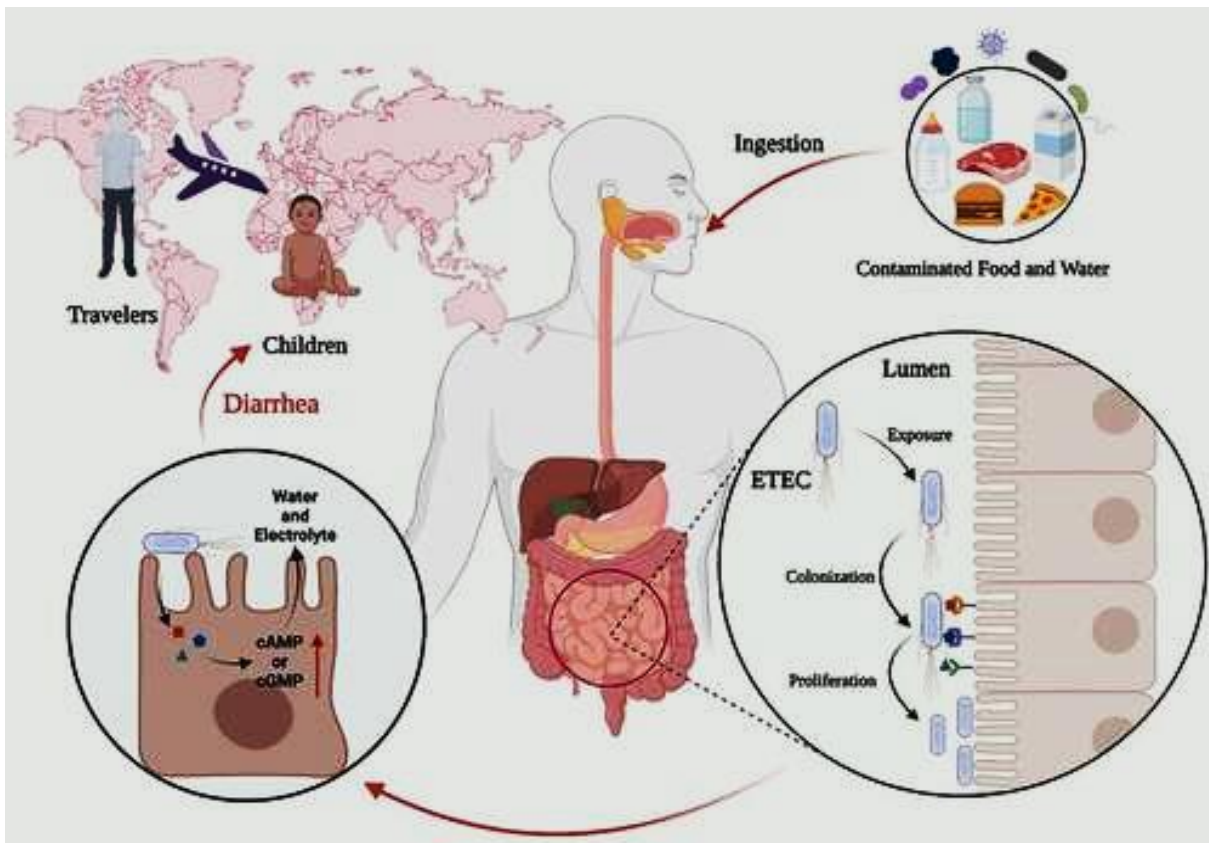


Figure 5 : Caractéristiques de l'infection ETEC [40].

EPEC est le principal agent pathogène entérique responsable de la diarrhée qui survient chez les voyageurs et les enfants dans les pays en développement.

L'infection à EPEC est causée par l'ingestion d'aliments et d'eau contaminés, par EPEC par le tractus gastro-intestinal et, éventuellement, par la colonisation dans l'intestin grêle. Lorsque l'EPEC est exposé dans l'intestin grêle, il colonise les cellules épithéliales intestinales par l'intermédiaire des mucoviscidoses, et l'EPEC prolifère sur l'épithélium intestinal après la colonisation. EPEC produit et délivre des entérotoxines thermolabiles (LT) et/ou thermostables (ST) pour exercer un effet toxique [40].

b) *E coli* enteropathogènes (EPEC)

Ils sont responsables de diarrhées infantiles et touchent en particulier les enfants en bas âge (<3 ans). Des lésions histopathologiques apparaissent lors d'infections. Ces lésions sont appelées lésions d'attachement et d'effacement. Ce phénotype est caractérisé par l'effacement des microvillosités intestinales et par l'adhérence de l'intimine entre les bactéries et la membrane cytoplasmique des entérocytes. Plusieurs gènes dont le gène eae sont à l'origine de ces lésions.

Deux groupes d'*E coli* sont responsables de maladies entériques (*E coli* entéroopathogènes (EPEC) et certains *E coli* producteurs de toxines Shiga (STEC) possèdent un groupe de gènes de virulence situés sur une île de pathogénicité chromosomique appelée locus of entérocyte effacement (LEE).

Les lésions A/E (lésions de fixation et d'effacement) sont produites sur l'épithélium intestinal (codées par le gène LEE chromosomique, c'est-à-dire le locus de l'effacement des entérocytes) ; ce qui entraîne une perturbation de l'épithélium de bordure de brosse provoquant une sécrétion accrue et une diarrhée aqueuse.

L'apparition de la maladie peut être aussi rapide que quelques heures après l'ingestion d'EPEC, et bien que la plupart des infections disparaissent après quelques jours, une diarrhée persistante nécessitant une hospitalisation peut survenir [38].

Ces toxines entraînent une série d'événements, conduisant finalement à l'effacement caractéristique des microvillosités, à une perméabilité accrue des jonctions serrées et à des altérations de la sécrétion et de l'absorption d'eau et d'électrolytes [41].

c) *E coli* enteroaggregatifs (EAEC)

La plupart des souches sont « O » non typables mais « H » typables.

La prévalence des maladies causées par les CEEA n'est pas claire car aucun marqueur moléculaire unique pour ces bactéries n'a été découvert. Les gènes codant pour les adhésines, les toxines, y compris la toxine Shiga, et d'autres protéines de virulence sont très variables parmi les EAEC [38].

Escherichia coli entéroaggrégative (EAEC) représente un groupe hétérogène de souches d'*E coli*. La pathogénicité et la pertinence clinique de ces bactéries sont encore controversées. Cette souche produit la puissante toxine Shiga avec les fimbriae agrégatives. Il s'agissait d'une production extensive de biofilm, une caractéristique importante de la pathogénicité de la CEEA [42].

d) *E coli* enteroinvasifs (EIEC)

Ils sont responsables de syndromes dysentériques caractérisés par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnées d'une diarrhée aqueuse qui évolue rapidement en dysenterie. Ils sont biochimiquement et génétiquement assez proches de *Shigella spp*, tout comme leur pathogénie (invasion de l'épithélium intestinal).

La pathogénèse de l'EIEC comprend pénétration des cellules épithéliales, lyse de la vacuole endocytaire, multiplication intracellulaire, mouvement directionnel à travers le cytoplasme, et Extension dans les cellules épithéliales adjacentes. L'EIEC n'est pas toxinogène mais invasive.

Ils provoquent des ulcérations de la muqueuse du gros intestin, d'où la présence de pus et parfois de sang dans les selles [43].

e) *E coli* entérohemorragiques (EHEC)

Ils sont à l'origine de troubles plus ou moins sévères allant d'une « simple » diarrhée peu hémorragique à des colites hémorragiques, voire à un Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) chez l'enfant ou à un Purpura Thrombotique et Thrombocytopenie (PTT) chez l'adulte, pouvant conduire parfois à la mort du patient. Les EHEC qui sont des souches isolées chez les malades, possèdent typiquement au moins un gène stx (stx1 codant pour la Shiga-toxine 1 ou stx2 codant pour la Shiga-toxine 2) ainsi que d'autres facteurs de virulence comme le gène eae.

L'ensemble des souches d'*Escherichia coli* possédant au moins un gène stx représente le groupe des STEC [Shiga-toxin-Producing *E coli*] (ou VTEC selon l'ancienne dénomination internationale [verotoxin-producing *E coli*]), le symptôme principal est la diarrhée, qui est sanglante chez environ 60% des patients et survient après une période d'incubation médiane de trois jours. Les toxines Shiga libérées par STEC induisent une cascade de changements thrombogènes et inflammatoires des cellules endothéliales microvasculaires. Le SHU est observé dans 5 à 15% des cas d'infection à STEC, définis par la triade de l'anémie hémolytique mécanique, de la thrombocytopénie et des lésions rénales aiguës [44].

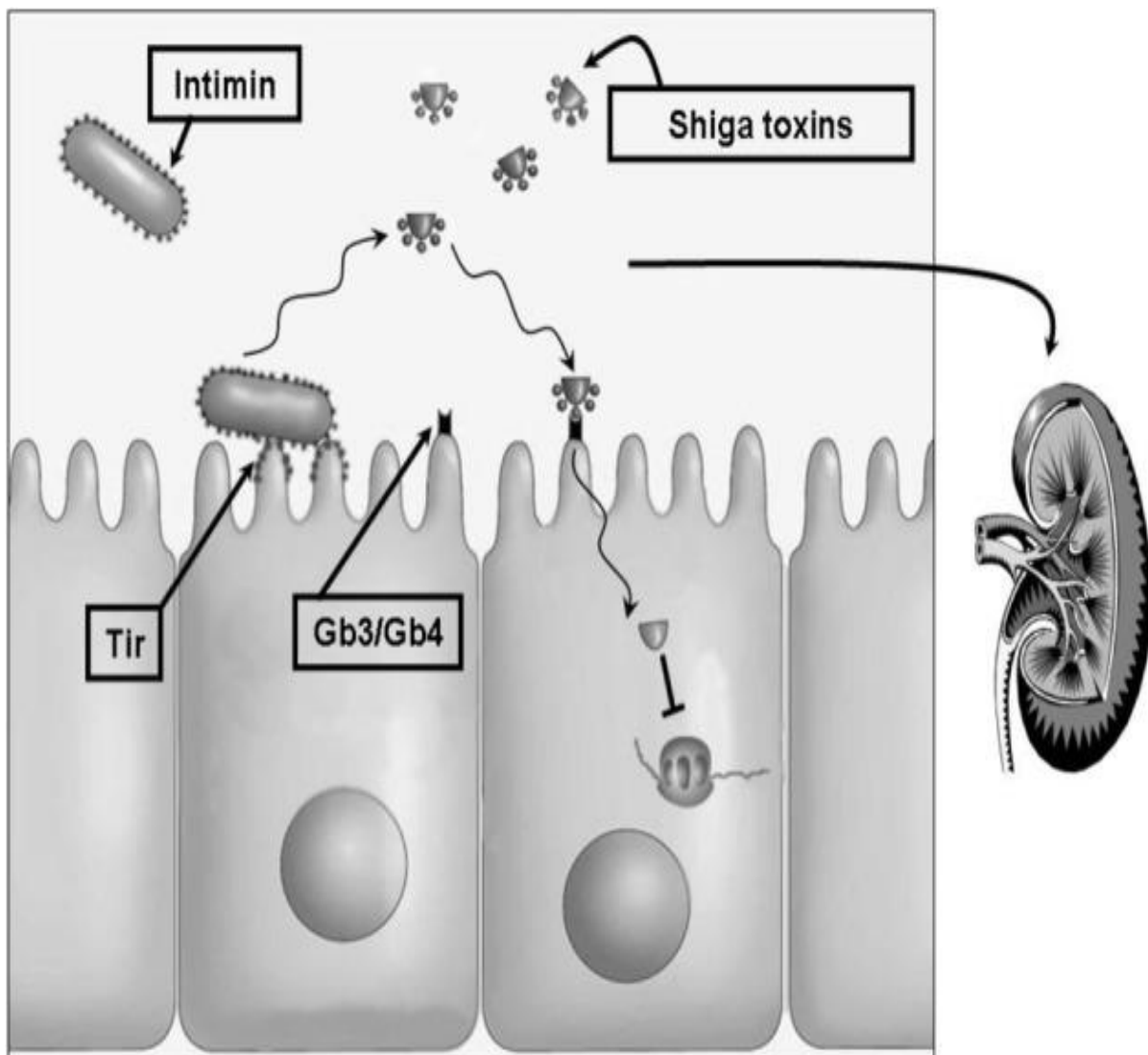


Figure 6 : Processus pathobiologique SHU de *E. coli* [44].

2.14. LES ANTIBIOTIQUES

a) 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).

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...) [45].

On distingue deux types d'antibiotiques :

- Les antibiotiques bactéricides : qui tuent les microbes
- Les antibiotiques bactériostatiques : qui ralentissent la croissance bactérienne pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance bactérienne [46].

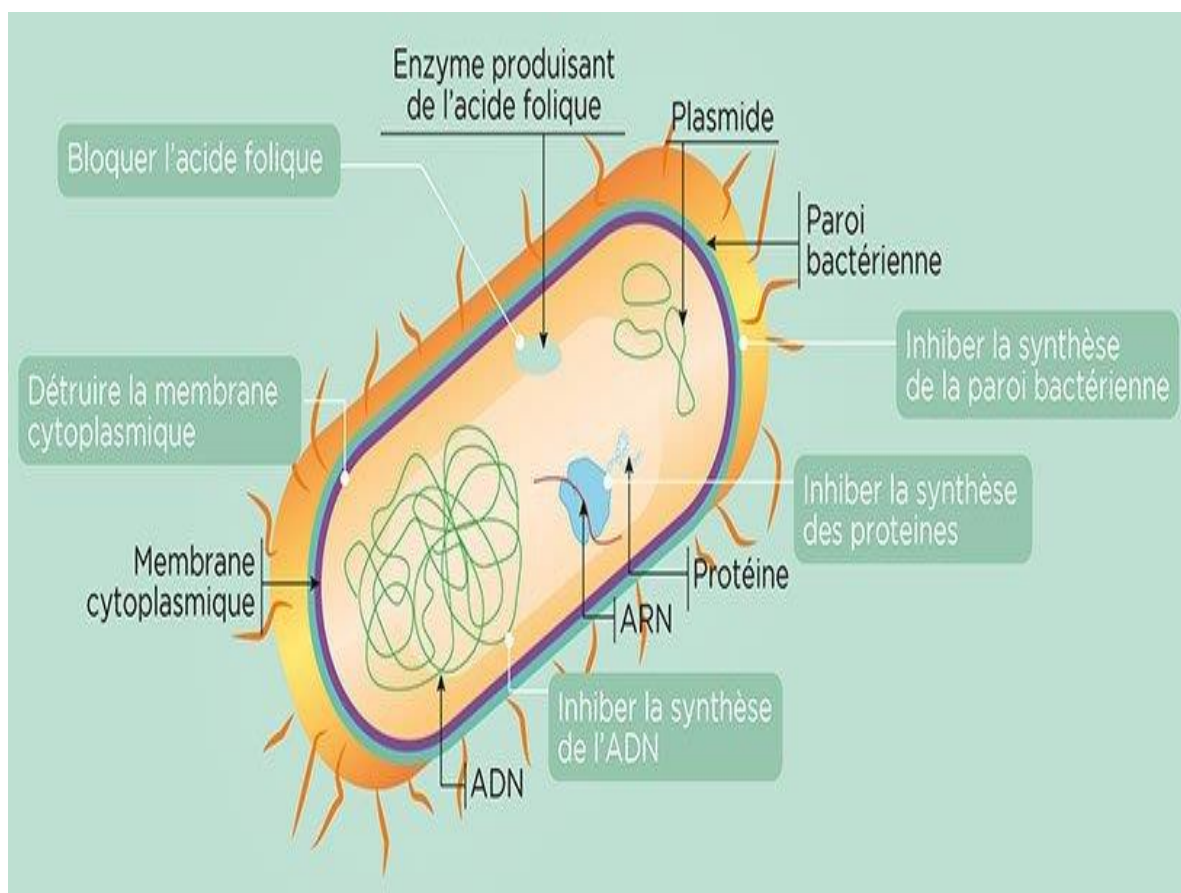


Figure 7 : Mécanisme d'action des antibiotiques [47].

2.14.1. La famille des bêta-lactamines

a) Généralité :

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus couramment utilisés dans le monde pour traiter les infections bactériennes à cause de leur large spectre d'activité et leur faible toxicité [48].

b) Structure :

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'anneau β -lactame, qui est formée de quatre membres : trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules [49].

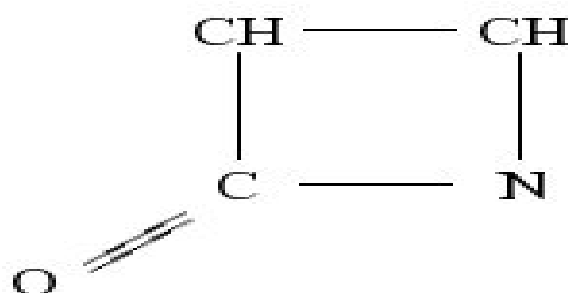


Figure 8 : noyau de beta lactamine [49].

c) Les sous familles des bêta-lactamines

- **Les pénicillines** : ont défini plusieurs sous-classes, dont les plus utilisées sont les aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline), les carboxypénicillines (ticarcilline) les uréidopénicillines (pipéracilline) et les amidinopénicillines (pivmecillinam).
- **Les céphalosporines** : Les céphalosporines de première génération (céfalotine, céfazoline et céfalexine), Les céphalosporines de deuxième génération (céfamandole, céfuroxime, céfoxitine et céfotétan), les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et céfopérazone), Les céphalosporines de quatrième génération (céfépime et cefpirome) [50].
- **Monobactames** : L'activité anti Gram négatif de l'aztréonam, chef de file de cette classe, est globalement comparable à celle des céphalosporines de 3ème génération comme la ceftazidime.

Carbapénèmes : 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).

Exemple : Imipenème, méropenème.

d) Mécanisme d'action :

Les β -lactamines interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi bactérienne, par inactivation des enzymes appelées protéines liant les pénicillines ou PLPs. Il s'agit d'enzymes d'activité variable de type transpeptidase, transglycosylase ou carboxypeptidase, localisées sur la face interne de la membrane cytoplasmique [51].

2.14.2. Aminosides

Les antibiotiques aminosidiques ou aminoglycosides sont des molécules de petite taille, qui présentent un large spectre, bactéricides, constituées de plusieurs cycles substitués par des fonctions amines notamment et dont certains sont des cycles sucrés.

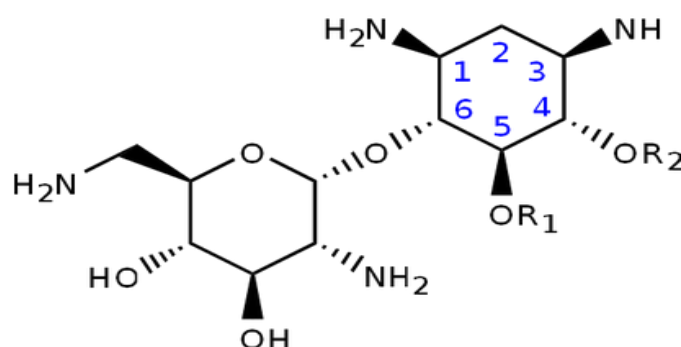
a) Structure :

Figure 9 : structure des aminosides [52].

b) Mécanisme d'action :

Le transport des aminosides à l'intérieur des bactéries est un processus requérant de l'énergie et que l'on peut décomposer en trois étapes successives.

- Première étape : Très rapide non spécifique et réversible, elle aboutit à la fixation des aminosides, molécules fortement cationiques, sur des structures anioniques externes de la membrane cytoplasmique.
- Deuxième étape : Elle requiert une énergie métabolique délivrée par un gradient entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule et cette étape peut être bloquée par mutation.
- Troisième étape : Elle est rapide. Les aminosides se fixent sur le ribosome et provoquent la fixation d'un ARNt incorrect sur l'ARNm, ce qui perturbe la reconnaissance codon-anticodon et induit la synthèse de protéines erronée.

Les molécules les plus utilisés sont la gentamicine et amikacine [53 ;52].

2.14.3. Quinolones

Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus.

a) Structure

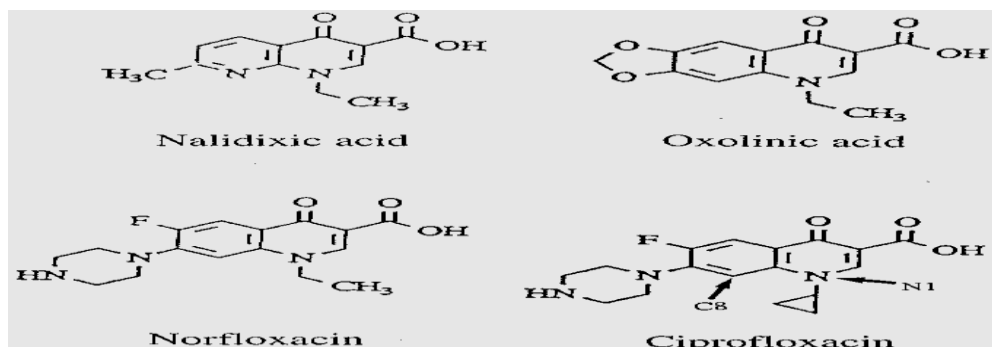


Figure 10 : structure des quinolones [54].

b) Mécanisme d'action :

Les quinolones inhibent les topoisomérases de type II (gyrase) et IV empêchant leur action dans le déroulement harmonieux de l'ADN qui est nécessaire à sa réplication l'ADN gyrase introduit un super-enroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien [54].

Le complexe quinolone-enzyme-ADN ainsi formé, bloque la progression de la fourche de réplication ce qui inhibe la synthèse de l'ADN et conduit à l'arrêt de la croissance bactérienne.

Exemple : la ciprofloxacin et acide nalidixique. [55].

2.14.4. Phénicolés : Chloramphénicol et Thiamphénicol :

a) Définition :

Chloramphénicol : Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre.

Thiamphénicol : Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire.

b) Mécanisme d'action :

Cet agent bactériostatique à large spectre se fixe à la sous-unité 50 S et inhibe la transpeptidation dans la synthèse des protéines.

2.14.5. Les tétracyclines

a) Définition :

Les tétracyclines sont bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité.

b) Mécanisme d'action :

Le mécanisme d'action des tétracyclines réside dans l'inhibition des synthèses protéiques. De nombreuses preuves expérimentales, notamment en systèmes acellulaires, ont été obtenues. Le mécanisme intime de cette action paraît être l'inhibition de la fixation du complexe aminoacide-ARNt synthétase sur le complexe ribosome-messenger [52].

2.14.6. . Résistance des bactéries aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration de cet antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la plupart des souches appartenant à la même espèce bactérienne [56].

2.14.7. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

a) Résistance non enzymatique

• Diminution de la perméabilité :

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée (pénicillines) [57].

• 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 [58].

• Modification des protéines liant la pénicilline (PLP) :

Les PLP sont des cibles physiologiques des β -lactamines [59].

b) Résistance enzymatique

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

Ces enzymes sont inhibés par bêta -lactamases telle que l'acide clavulanique, le sulbactam et tazobactam [54].

• 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 bêta-lactamines excepté les carbapénèmes [54].

- **Les carbapénémases :**

Les carbapénèmes sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections [54].

2.14.8. Mécanisme de résistance aux aminosides

Le mécanisme de résistance bactérienne chez les aminosides, est une forme de résistance acquise le plus fréquent. Les enzymes qui modifient les aminosides ont plusieurs cibles possibles :

Les différents groupements hydroxyles, qui peuvent subir une réaction de phosphorylation ou d'adénylation sous l'action d'O- phosphotransférases ou d'O- acétyltransférases ;

Les groupements aminés qui peuvent être acétylés par des N-acétyltransférases.

L'enzyme ne détruit pas son substrat mais le modifie de telle façon que son transport à travers la membrane cytoplasmique est inhibé : l'aminoside modifié ne peut atteindre sa cible, le ribosome.

2.14.9. Mécanisme de résistance aux quinolones

La résistance acquise des bactéries aux quinolones est due dans la grande majorité des cas à une modification de l'ADN gyrase. Plus rarement, elle résulte d'une diminution de la perméabilité de la membrane externe et dans cette éventualité, la pénétration d'antibiotiques appartenant à d'autres familles est également perturbée [60].

2.14.10. Résistance aux autres classes d'antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatifs

Les entérobactéries habituellement résistantes aux macrolides, lincosamides et synergistines sont habituellement sensibles aux phénicoles, tétracyclines, sulfamides, triméthoprime, nitrofuranes, fosfomycine et polymyxine (colistine). En plus de la résistance naturelle, les entérobactéries peuvent devenir résistantes (résistance acquise) à un ou plusieurs de ces antibiotiques ou antibactériens par mutations chromosomiques ou acquisition de plasmides de résistance [61].

METHODOLOGIE

3. METHODOLOGIE

3.1. Cadre et lieu d'étude

L'étude a été faite pour contribuer l'effort visant à réduire la résistance des pathogènes aux antimicrobiens.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Biologie médicale et d'hygiène hospitalière du Centre Hospitalier Universitaire du Point « G » et au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA).

3.2. Description des lieux d'étude

a) Hôpital du Point « G »

L'hôpital du Point « G » a été construit de 1906 à 1913 sur une superficie de 25 hectares et était administré par les médecins militaires français jusqu'à 1958. Aujourd'hui l'hôpital du Point « G » est la plus grande formation sanitaire du Mali et est la dernière référence.

Géographiquement l'hôpital du Point « G » est situé sur la colline au nord de la ville de Bamako à 9,1 km du centre-ville, face de Koulouba et il reçoit beaucoup de patients référés.

Il comprend :

- L'unité des urgences et de réanimation
- Les services de médecine et de spécialités médicales : maladies infectieuses, cardiologie, hémato-oncologie, médecine interne, néphrologie, neurologie, pneumologie, psychiatrie, rhumatologie.
- Les services de chirurgie et de spécialités chirurgicales : anesthésie réanimation, chirurgie A et B, gynéco-obstétrique.
- Les services médicaux techniques et le laboratoire : Imagerie médicale et de médecine nucléaire, laboratoire de biologie médicale et de l'hygiène hospitalière et la pharmacie hospitalière, anatomie pathologique.
- Deux nouveaux centres pour la prise en charge de la COVID-19.

➤ Brève présentation du laboratoire :

Le laboratoire du CHU du Point « G » est composé :

- Un secrétariat ;
- Une salle d'attente ;
- Deux salles de prélèvements ;
- Quatre (4) bureaux répartis comme suit un pour le Chef de service ; deux pour les biologistes, un pour le major ;

Le service comprend cinq (7) unités :

- La biochimie ;
- La microbiologie ;
- L'hématologie ;
- Sérologie ;
- La biologie moléculaire ;
- La sérologie ;
- Deux magasins, une chambre froide, une salle de stérilisation, une salle de laverie, deux toilettes, et une salle de garde ;

➤ **Description de l'unité de microbiologie**

La salle de Bactériologie comprend 3 postes et un bureau :

- Un poste de réception et de traitement des échantillons ;
- Un poste de technique des différents échantillons
- Un poste d'observation pour la lecture ;
- Un bureau central pour l'enregistrement des échantillons et des résultats (registres).

b) Laboratoire de biologie moléculaire (LBMA)

Le laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) sis à la faculté des Science techniques (FST) de l'Université des Sciences et techniques et des technologies de Bamako (USTTB) Mali sur la colline de Badalabougou.

Le LBMA est un centre international d'excellence pour la formation et la recherche en santé et en agriculture depuis sa création en 2000 par Professeur OUSMANE KOITA.

Les principaux axes d'intervention du LBMA sont :

1. La formation des étudiants de Master ; PhD sciences biologiques et agronomiques, doctorat en pharmacie et médecine ;
2. La recherche pour la lutte contre les pathologies humaines (paludisme, VIH, tuberculose etc...)
3. La recherche en biotechnologie pour l'amélioration de la production végétale et animale ;
4. Le renforcement des capacités du pays pour le suivi et l'évaluation des projets de développement international en santé et en agriculture.

Le LBMA est composé de plusieurs unités (<https://www.lbma.edu.ml/>) :

- Une unité de parasitologie,
- Une unité de biotechnologie végétale/animale ;
- Une unité de virologie, une unité de zoonose ;
- Une unité d'entomologie médicale ;
- Une unité de biologie clinique ;

3.3.Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude retro-prospective, descriptive et analytique sur les souches d'*Escherichia coli* isolées des selles par coproculture au laboratoire CHU du Point « G » de janvier 2020 au décembre 2021.

3.4.Population de l'étude

Notre étude a concerné toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées des selles par coproculture. Les souches étaient conservées dans un bouillon nutritif avec 15% glycérol, et stocké dans un congélateur au laboratoire de biologie médicale du CHU du Point « G ».

3.5.Echantillonnage

Il s'agissait d'un échantillonnage non probabiliste avec l'inclusion exhaustif de toutes les souches conservées dans la souchethèque du laboratoire du CHU du Point « G ».

3.6.Critère d'inclusion

Toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées par coproculture au laboratoire d'analyse médicale de CHU du Point « G » quelle que soit leur provenance (communautaire ou hospitalière) ont été inclus dans notre étude.

3.7.Critère de non inclusion

N'ont pas été inclus :

Les souches d'*Escherichia coli* isolées des prélèvements autres que les selles ;

Les souches conservées qui n'ont pas poussé au repiquage ;

Les souches pour lesquelles les informations sur les fiches d'antibiogramme étaient incomplètes.

3.8.Collectes des données

Les données ont été collectées à partir :

- Des registres de conservation des souches ;
- Des registres du secrétariat du laboratoire,
- Des registres de paillasse,
- Des fiches d'antibiogramme archivées.

3.9. Variables étudiées

a) Données sociodémographiques

Les données ont concerné l'année, l'âge, le sexe et la provenance des échantillons (services).

b) Données bactériologiques

Les souches ;

Les fiches d'antibiogrammes ;

3.10. Matériel

a) Equipements

Boîte de pétri ;

Flacon de 100 à 1000ML en pyrex avec bouchon auto lavables ;

Peigne pour gel ;

Tube Eppendorf ;

Incubateur ;

Balance de précision électrique ;

Agitateur homogénéisateur chauffage magnétique et électrique ;

Autoclave ;

Thermocycleur ;

Générateur ;

Appareil à photographie d'image digitale UVP avec un programme d'analyse ;

Cuve de migration ;

Bain marin ;

Micro-onde ;

Congélateur ;

b) Matériel biologique

Les souches d'*Escherichia coli* ;

c) Petits matériels

Anse ;

Pipettes et embouts ;

Cryotubes ;

d) Réactifs

Réactifs	Concentration
Amorces	100UM
MgCl ₂	25Mm
1X Buffer (Mg ²⁺ +free)	10X
dNTP	10mM
Taq polymérase	500U/ml
TBE	10X
BROMURE D'ETHILIUM	10mg/ml
Gel agarose	2%
Markers	100pb
Agarose	2%

3.11. Méthode au laboratoire**3.11.1. Au CHU du Point « G » : nous avons vérifiés :****➤ La conformité :**

La conformité a été basée sur :

- Des registres du secrétariat du laboratoire,
- Des registres de paillasse de coproculture,
- Des résultats des fiches d'antibiogramme archivés,
- Registre de conservation des souches,

➤ Identification :

Les bactéries avaient été préalablement identifiées par des techniques de routine base sur l'étude des caractères morphologiques, caractères cultureux, biochimiques et l'antibiogramme

➤ Caractères morphologiques

L'aspect des colonies sur la gélose de Drigalski et la coloration de Gram ont permis de mettre en évidence les caractères morphologiques de nos souches.

➤ Caractères biochimiques

Le test à l'oxydase, le test Urée-Indole, et la galerie API 20E nous ont permis de mettre en évidence les caractères biochimiques de nos souches.

➤ L'antibiogramme

Nos antibiogrammes ont été réalisés par méthode par diffusion sur la gélose Muller Hinton. Nos résultats ont été interprétés selon les diamètres d'inhibitions en se référant sur les données d'EUCAST 2020 et 2021.

➤ **Les disques d'antibiotiques testés****Tableau 1** : Disques d'antibiotiques (EUCAST 2020-2021)

ATBs	Abréviation	Charge en µg
Imipenème	IMP	10µg
Cefalotine	CEF	30µg
Ticarcilline	TIC	75µg
Amoxicilline	AMX	20µg
Cefotaxime	CTX	30µg
Amoxi-acide clavulanique	AMC	20/10µg
Ceftazidime	CAZ	30µg
Cefoxitine	FOX	30µg
Tétracycline	TET	30µg
Gentamicine	GNM	10µg
Chloramphénicol	CHL	30µg
Ciprofloxacine	CIP	30µg
Acide nalidixique	NAL	30µg
Amikacine	AK	30µg
Colistine	CS	10µg

3.11.2. Conditionnement et transport à partir du Point « G »

Les organismes (souches) étaient en suspension dans un bouillon nutritif contenant 15% de glycérol dans les cryotubes et arrangés dans une boîte bien identifier.

La suspension était congelée et conservée à -20°C dans un congélateur.

Les souches ont été transportées au laboratoire LBMA dans une glacière avec accumulateur de glace, tout en respectant les conditions de transport.

3.11.3. Au laboratoire de biologie moléculaire appliqué

Les échantillons ont été traités sous la hotte de biosécurité pour éviter toute contamination au cours des manipulations.



Figure 11 : Image d'une hotte prise au laboratoire LBMA.

3.11.3.1. Milieux de cultures

Nous avons utilisé deux milieux de culture : Eosine bleue de méthylène et Muller Hinton.

a) Gélose EMB (éosine bleue de méthylène)

Cette gélose a été utilisée pour le ré-isolément de nos souches ; en raison de l'aspect caractéristique d'*E coli* sur ce milieu, et incubés à 32° plus ou moins 5°C pendant 18 à 24h.

Escherichia coli donne des colonies à reflet vert métallique ou sombres sans le reflet sur ce milieu faisant penser au dos d'un scarabée.

➤ Préparation du milieu EMB

Dissoudre 34,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène chauffer lentement, en agitant fréquemment puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète ; Autoclave à 121°C plus ou moins 1 °C pendant 20 minutes.

Laisse refroidir à la température ambiante puis repartir dans les boites à pétri 25ml/boite de pétri sous l'hôte.

➤ Le principe

Le principe repose sur l'aptitude des Entérobactéries à fermenté ou non le lactose et ou saccharose, le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries à GRAM positives par le bleu de méthylène et éosine.

➤ Lecture et interprétation

Escherichia-coli donne des colonies de 2 à 3 mm, plates violet foncé ou verdâtre ou noirâtre avec ou sans reflet métallique faisant penser au dos du scarabée.

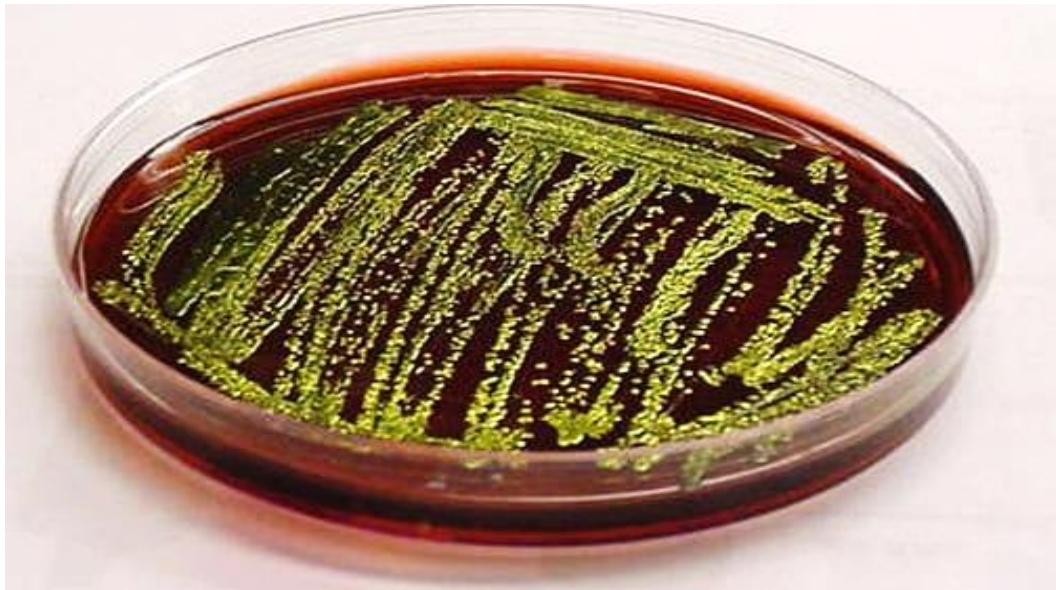


Figure 12 : *Escherichia coli* sur la gélose EMB [62].

b) Gélose Muller Hinton

La gélose Mueller-Hinton a été utilisée pour accélérer la croissance de nos souches.

➤ Préparation :

- Dissoudre 38 grammes dans 1 litre d'eau purifiée.
- Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
- Répartir en flacons.
- Mettre les flacons dans l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.
- Laisser refroidir à la température ambiante.
- Répartir immédiatement dans les boîtes de Pétri et laisser solidifier sous l'hôte

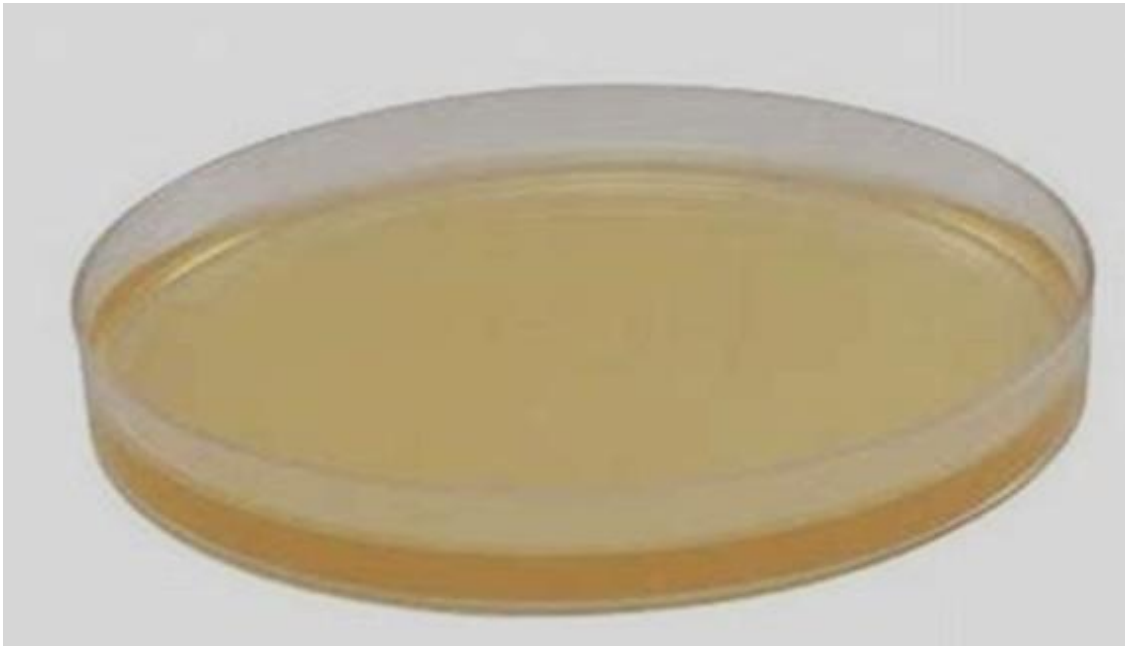


Figure 13 : gélose Muller Hinton [63].

- c) **Conservation des souches** : la gélose PCA + glycérol a été utilisée pour la conservation des souches.

➤ **Préparation :**

Mettre en suspension 23,5 grammes dans 1 litre d'eau purifiée. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.

Mettre dans l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Laissé refroidir à la température ambiante.

Répartir en ajoutant du glycérol dans les flacons dans un réfrigérateur pour conserver les souches.

a. Principe :

La gélose PCA (Plate Count Agar) est un milieu recommandé pour le dénombrement des bactéries.

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés.



Figure 14 : gélose PCA dans un flacon

3.11.3.2. Méthode d'ensemencement

L'ensemble des souches ont été mises en culture sur le milieu EMB pendant 24h à 37°C pour la vérification de la pureté et vérifié qu'il s'agit bien d'*Escherichia coli* grâce à son caractère métallique sur cette gélose puis, Ensemencées sur milieu la gélosé du type MH (Muller Hinton) permettant d'obtenir plus de colonies et incubées pendant 24h à 37°C.

Les milieux de cultures ainsi que les échantillons ont été déposés sous la hotte pour atteindre la température ambiante.

Les souches ont été ensemencées selon la méthode de la plaque striée qui est une technique de laboratoire microbiologique consistant à isoler des cultures pures et/ou à obtenir des colonies bien isolées de bactéries.

3.11.3.3. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait de cultures bactériennes par la méthode SALTING OUT.

Cette méthode se réalise en trois phases :

- La lyse cellulaire ;
- La précipitation ;
- La purification ;

Le surnageant obtenu, a été utilisé pour faire les réactions de PCR et ont été conservé à -4°C.

Protocole d'extraction de salting out

➤ Etape de la lyse

- Mettre 500ML de lyse + l'échantillon, vortexer ; puis centrifuger à 13000 rpm pendant 1 minute puis jeter le surnageant ;
- Ajouter 500ML d'eau distillée, vortexer et centrifuger à 13000 rpm pendant 1 minute et jeter le surnageant ;

➤ Etape de la Précipitation

- Ajouter 185µl du Mix (80µl de PK buffer 5x ; 30µl du PK ; 20µl de SDS 20% et 240µl d'eau) dans le tube et vortexer puis incubé à 55°C pendant 15 minutes ;
- Ajouter 200µl de NaCl 5M, vortexer et centrifuger à 13000 rpm pendant 5 minutes ;

➤ Etape de la purification

- Prélever 125ml du surnageant, ajouter 1ml d'ETOH absolu, agiter délicatement à la main, centrifuger à 13000 rpm pendant une minute, jeter le surnageant ;
- Ajouter 200ml d'ETOH 70% frais. Vortexer centrifugé à 13000 rpm pendant 1 minute, jeté le surnageant (Faire cette étape deux fois)

- Egoutter bien les tubes sur papier absorbant, puis incuber à bouchon ouvert pendant au moins 2 heures ;
- Ajouter 50 à 100ml de TE ou H₂O ultra pure, vortexer et incuber pendant 2 minutes puis conserver à -20 °C ;

3.11.3.4. Polymérase Chain Réaction (PCR) : (protocole de laboratoire de biologie moléculaire appliqué « LBMA »)

C'est une technique de biologie moléculaire basée sur la sélection puis l'amplification d'un gène spécifique de la bactérie à partir d'amorces spécifiques à ce gène. Elle permet l'amplification exponentielle d'une région spécifique d'un acide nucléique donné par l'utilisation d'une ADN polymérase thermostable, d'amorces et quatre désoxyribonucléotides triphosphates (tps). Elle a l'avantage de pouvoir détecter une souche spécifique de la bactérie par des gènes spécifiques ou après digestion du produit de PCR avec des enzymes de restriction spécifique. L'ensemble est soumis à une série de cycles de température afin d'obtenir une quantité suffisante de la séquence d'ADN désirée.

➤ Amplification des gènes de virulence par la PCR multiplex

Les amorces spécifiques utilisées correspondent à l'identification de cinq souches d'*E. coli* pathogènes responsables des diarrhées, il s'agissait des souches EAEC, EHEC, EIEC, EPEC et ETEC.

L'ADN extrait des échantillons de selles est soumis à une PCR multiplex avec les amorces spécifiques pour la détection des marqueurs de virulence suivants :

- *eaeA* (gène structurale pour l'intimine d'EHEC et EPEC) ;
- *bfpA* (gène de structure d'EPEC) ;
- *vt1* et/ou *vt2* (Vero toxines 1 et 2 d'EHEC) ;
- *eltB* et/ou *estA* (entérotoxines LT et ST d'ETEC) ;
- *ial* (plasmide d'invasion trouvé chez EIEC et chez *Shigella*) ;
- pCVD (séquence de nucléotide d'EcoRI-PstI, fragment d'ADN de pCVD432 d'EAEC).

Les critères minimums pour déterminer le *E. coli* responsable des diarrhées (EAEC, EHEC, EIEC, EPEC et ETEC) sont définis comme suit :

- La présence d'*eltB* et/ou *estA* pour ETEC ;
- La présence de *vt1* et/ou *vt2* pour EHEC (en plus de la présence de *vt1* et/ou *vt2* s'il y a la présence d'*eaeA* confirme la détection de la souche typique EHEC) ;

- La présence de *bfpA* et *eaeA* pour EPEC typique (mais la présence de *eaeA* seul pour EPEC atypique) ;
- La présence d'*ial* pour EIEC et *Shigella* ;
- La présence de *pCVD432* pour EAEC.

➤ **Composition du mélange réactionnel pour la PCR multiplexe**

La PCR pour les amorces spécifiques est conduite suivant le protocole modifié de **Samuel Vilchez & coll.** Un volume total de 25 µL a été utilisé avec 3 µL de la suspension d'ADN, 1x Buffer (Mg²⁺ free) 3,5 mM de MgCl₂, 0,8 mM de dinucleotides triphosphates (dNTPs) (Invitrogen), 0,4µM de chaque amorce des gènes de virulence et 0,1 U de Taq polymérase (PROMEGA, Madison, WI USA).

➤ **Amplification par la PCR monoplexe des gènes de virulence**

En raison de fortes similitudes entre les tailles des bandes, il est parfois difficile de distinguer les bandes individuelles ; par conséquent, il est nécessaire d'effectuer une **PCR** avec chaque amorce spécifique sur des colonies isolées pour vérifier la détection de l'isolat suspecté *E coli*.

➤ **Programme de l'amplification par PCR**

Le programme d'amplification est fait à l'aide d'un thermocycleur (PTC-200 de MJ Research, Inc., USA), comme suit : une dénaturation initiale des brins d'ADN à 94°C pour 5 minutes suivie d'un cycle qui inclut une dénaturation (94,0 °C, 30 secondes), un appariement des amorces (60°C ; 1 minute) et une extension de la copie du brin d'ADN (72°C ; 75 secondes), ce cycle est répété 40 fois environs. Enfin, les amplicons sont être conservés dans le thermocycleur à 4°C avant l'électrophorèse.



Figure 15 : Image d'un PTC-200 Thermocycleur avec bloc alpha de puits 384 [64].

Tableau 2 : Liste des amorces utilisées pour la classification des souches d'*E. coli* [LBMA].

Souches	Gènes cibles	Amorces	Séquences d'amorces (5'→3'), (3'→5')	Taille (bp)
ETEC	<i>EltB</i>	LT	<i>TCTCTATGTGCATACGGAGC</i>	322
			<i>CCATACTGATTGCCGCAAT</i>	
ETEC	<i>EstA</i>	ST	<i>GTCAAACCAGTA (G / A)</i> <i>GTCTTCAAAA</i>	147
			<i>CCCGGTACA (G / A)</i> <i>GAGGATTACAACA</i>	
EHEC	<i>vt1</i>	VT1	<i>GAAGAGTCCGTGGGATTAC</i>	130
			<i>AGCGATGCAGCTATTAATAA</i>	
EHEC	<i>vt2</i>	VT2	<i>ACCGTTTTTCAGATTTT (G / A)</i> <i>CACATA</i>	298
			<i>TACACAGGAGCAGTTTCAGACAGT</i>	
EPEC	<i>EaeA</i>	Eae	<i>CACACGAATAAACTGACTAAAATG</i>	376
			<i>AAAAACGCTGACCCGCACCTAAAT</i>	
EPEC	<i>BfpA</i>	BfpA	<i>TTCTTGGTGCTTGCGTGTCTTTT</i>	367
			<i>TTTTGTTTGTGTATCTTTGTAA</i>	
EIEC	<i>Ial</i>	SHIG	<i>CTGGTAGGTATGGTGAGG</i>	320
			<i>CCAGGCCAACAATTATTTC</i>	
EAEC	<i>pCVD432</i>	EA	<i>CTGGCGAAAGACTGTATCAT</i>	630
			<i>AAATGTATAGAAATCCGCTGTT</i>	

3.11.3.5. Electrophorèse (protocole de laboratoire biologie moléculaire appliquée « LBMA »)

Mode opératoire :

- Préparer une solution d'agarose à 2% de TBE 0,5x au four micro-onde pendant environ 1,30mn ;
- Ajouter 30µl de bromure d'éthidium, mélanger puis mouler dans un bac monté d'un peigne sur une surface plane bien ajustée, laisser le gel se polymériser pendant environ 30mn à 1 heure ;
- Placer le gel dans le bac à électrophorèse submergé d'une solution de TBE 0,5x. Loger les échantillons à tester et les contrôles en mélangeant 13µl d'ADN et 2µl de Dye dans les puits du peigne en commençant par le marker XVI (**DNA Molecular Weight Marker XIV, Roche, Allemagne**) ou le marker 100 bp.
- Faire migrer du pôle moins (-) vers le pôle plus (+) pendant environ 90mn à 100 volts et à 2 ampères ;
- Révéler les bandes en scannant le gel à l'aide de l'appareil photo UVP relié à l'ordinateur, sauvegarder le fichier et analyser les paramètres moléculaires ;

➤ Visualisation des bandes amplifiées

Les bandes rendues fluorescentes par le bromure d'éthidium sont photographiées sous la lumière Ultra-violette du Trans illuminateur (Fisher) ensuite l'image du gel est téléchargée à l'aide de la caméra du système UVP relié à l'ordinateur Fujitsu. **La présence d'une bande de taille spécifique sur le gel d'agarose traduit la présence de l'une des cinq souches pathogènes d'*E coli*.** Ensuite on recherche les bandes identifiées pour chaque paire d'amorces étaient ensuite enregistrées dans le tableur Excel sur Windows 2000. Le programme UVP permet d'estimer la taille de chacun des fragments amplifiés afin de confirmer avec précision la souche pathogène d'*E coli* correspondante.

➤ Détermination de la taille des bandes

Elle se fait par l'introduction d'un marqueur de taille (ou de poids moléculaire) comme référence qui migre en même temps que les échantillons à tester.

3.12. SAISIE ET ANALYSE DES DONNEES

Le traitement de texte et des graphiques seront faits sur le logiciel Microsoft d'Office 2019 Word et Excel. La saisie et l'analyse des données quant à eux seront faites par le logiciel IBM SPSS version 25.

RESULTATS

4. RESULTATS

Au cours de notre étude nous avons inclus 98 souches d'*Escherichia-coli* provenant des différents services au CHU du Point « G » et d'autres structures sanitaires de Bamako.

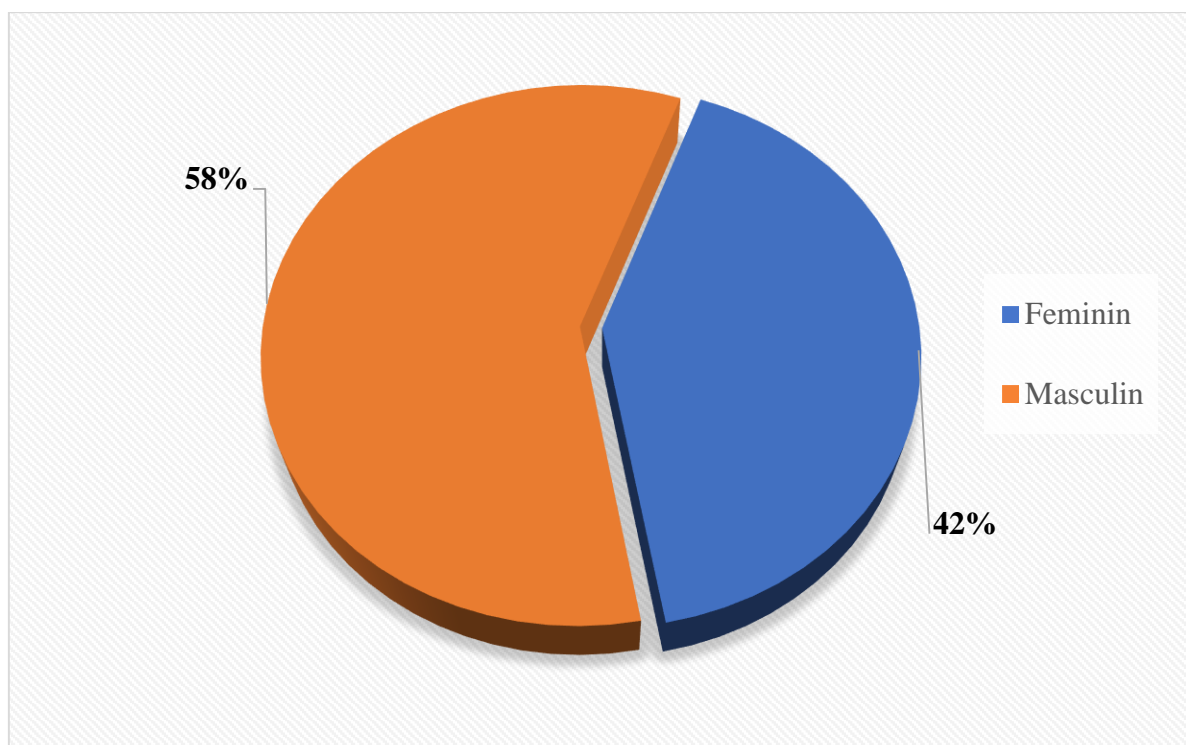
Tableau 3 : Répartition des patients en fonction des années et de l'effectif.

Année	Effectif	%
2020	27	27,55%
2021	71	72,44%
Total	98	100%

Nous avons isolé plus de souches en 2021 soit **72,44%**.

➤ **Caractères socio-démographiques**

Figure 16: Répartition des patients selon le sexe.



Les sujets de sexe masculin étaient les plus fréquents soit (58%), avec un sex-ratio de 1,04 (H/F= 1,04) en faveur des hommes.

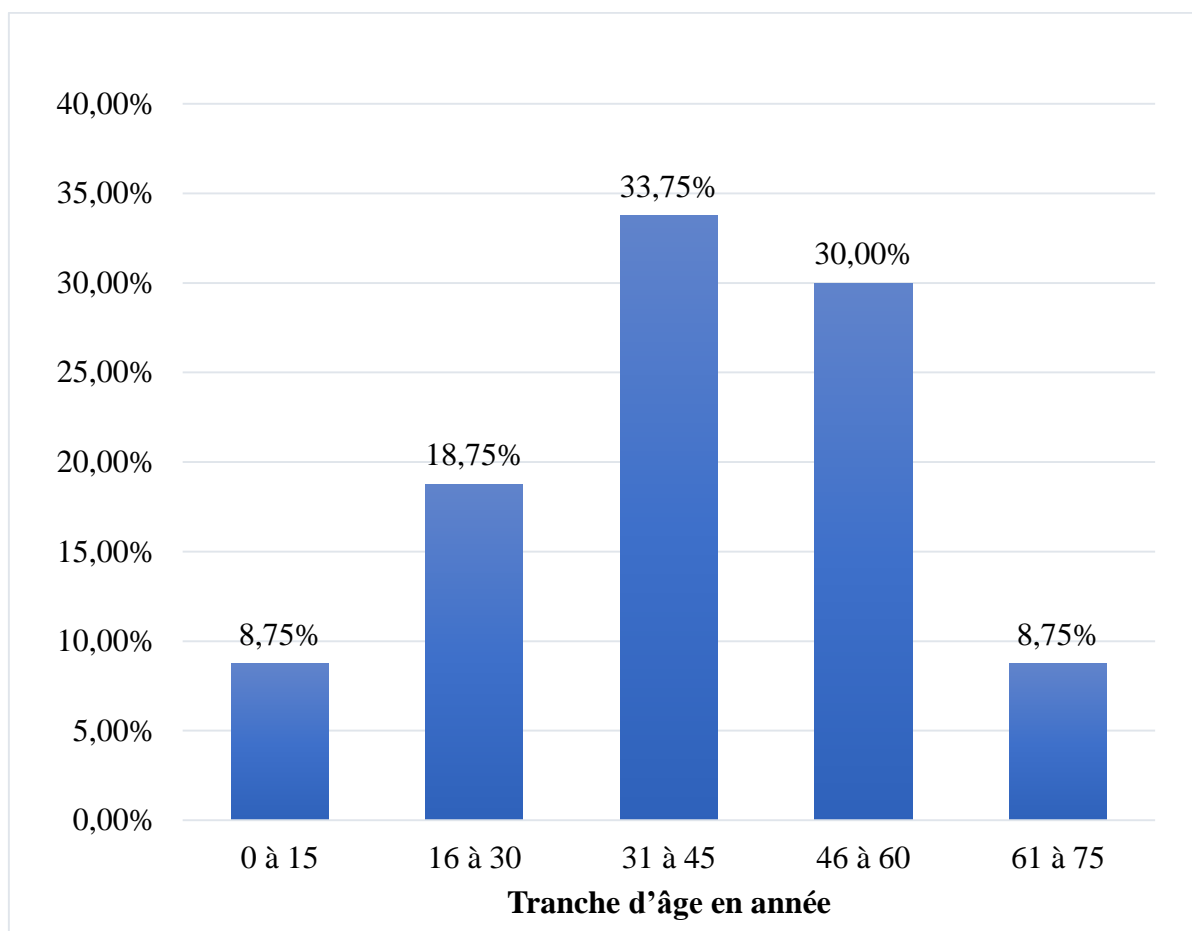


Figure 17 : Répartition des patients selon les tranches d'âge en année.

L'âge moyen de nos patients était de 27 ans avec des extrêmes allant de 8 ans à 70 ans.

Les tranches d'âges de 31-45 ans et de 46-60 ans étaient les plus représentées respectivement **33,75%** et **30%**.

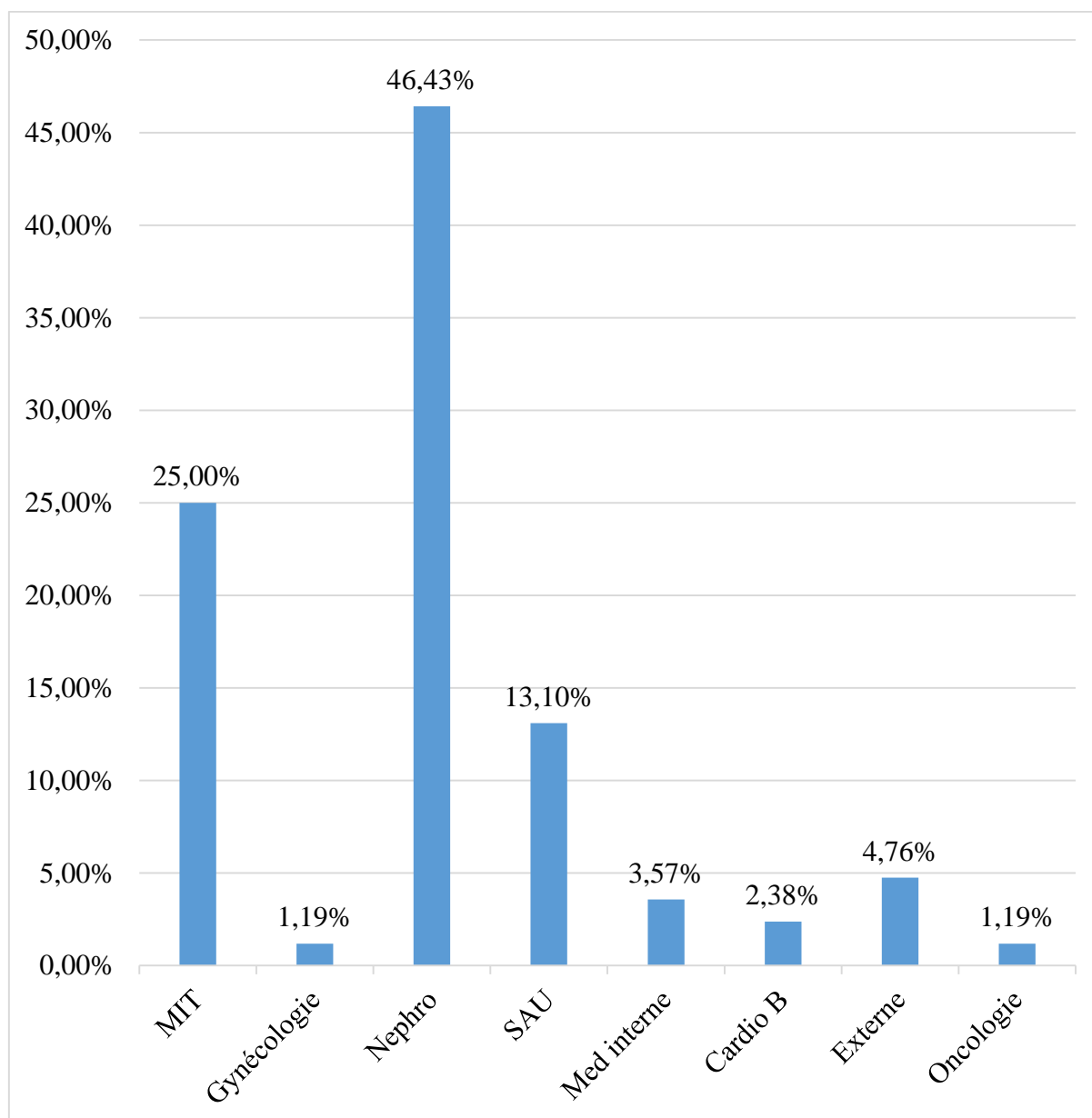


Figure 18 : Répartition des patients selon la provenance.

MIT : service de maladie infectieuse et tropicale ; Nephro : Néphrologie ; SAU : service des urgences ; Cardio B : service de cardiologie « B ».

La plupart de nos patients provenaient du service de la néphrologie suivi du service des maladies infectieuses et tropicales avec des pourcentages respectifs de **47,56%** et **25,61%**.

➤ **Pathotypes****Tableau 4** : Fréquence de la détection des gènes des pathotypes.

Pathotypes	Effectif	Pourcentage
Nombre de cas détecté	90	91,83%
Absence de détection	8	8,16%
Total	98	100,00%

Les gènes de pathotypes ont été détectés sur 90 souches soit une fréquence de 91,83%.

Tableau 5: Répartition des souches d'*Escherichia coli* selon la détection des gènes des facteurs de pathogénicité.

Pathotypes	Nbre de cas détectés (%)	Absce de détection (%)	Total
(N = 90/98)			
EAEC	51 (52,04%)	47 (47,95%)	98 (100%)
EPEC	57 (59,18%)	41 (41,83%)	98 (100%)
ETEC	26 (26,53%)	46 (46,93%)	98 (100%)
EIEC	0(0%)	98(100%)	98(100%)
EHEC	2(2,04%)	96(97,96)	98(100%)
Pathotypes associé (N : 66/98)			
EAEC+EPEC	31 (31,63%)	67 (68,36%)	98 (100%)
EPEC+ ETEC	16 (16,32%)	82 (83,67%)	98 (100%)
EAEC + ETEC	11 (11,22%)	77 (87,50%)	98 (100%)
EAEC+EPEC+ETEC	8 (8,16%)	90 (91,83%)	98 (100%)

Les pathotypes EPEC et EAEC étaient les plus fréquents soit respectivement de **59,18%** et **57,77%**.

Les pathotypes associé EAEC + EPEC étaient les plus représentés soit 31,63%.

Tableau 6: Répartition des pathotypes selon le sexe.

Pathotypes	EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
N = 98					
Masculin	59,57%	53,06%	54,17%	0%	100%
Féminin	40,43%	46,94%	45,83%	0%	0%
Total	100,00%	100,00%	100%	0%	100%

Nos pathotypes ont été plus fréquents chez nos sujets de sexe masculin.

Tableau 7: Répartition des pathotypes selon la tranche d'âge.

Pathotypes	EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
N = 98					
0 à 15 ans	7,32%	11,63%	13,64%	0%	0%
16 à 30 ans	26,83%	20,93%	13,64%	0%	0%
31 à 45 ans	34,15%	32,56	36,36%	0%	0%
46 à 60 ans	29,27%	32,56%	27,27%	0%	50%
61 à 75 ans	2,44%	2,33%	9,09%	0%	50%
Total	100,00%	100,00%	100%	0%	100%

La tranche d'âge 31-45 ans était la plus représentée avec une fréquence de 34,15% pour EAEC, 32,56% pour EPEC et 36,36% pour ETEC.

Tableau 8: Répartition des pathotypes selon la provenance.

Pathotypes	EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
N = 98					
MIT	33,33%	29,79%	33,33%	0,00%	0,00%
Gynécologie	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Néphrologie	42,22%	46,81%	42,86%	0,00%	50,00%
SAU	8,89%	12,77%	9,52%	0,00%	0,00%
Med interne	2,22%	2,13%	9,52%	0,00%	50,00%
Cardiologie « B »	4,44%	4,26%	4,76%	0,00%	0,00%
Externe	8,88%	2,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Oncologie	0,00%	2,10%	0,00%	0,00%	0,00%
Total	100%	100%	100%	0%	100%

Le service néphrologie était le plus représenté pour les différents pathotypes et c'est le pathotype EPEC qui prédominait avec une fréquence de **46,81%**.

➤ **Sensibilités des souches aux antibiotiques testés****Tableau 9:** Répartition des souches de la sensibilité aux bêta-lactamines, aux aminosides et quinolones testés.

ANTIBIOTIQUES	Sensible (%)	Résistant (%)
Amoxicilline	3 (3,19%)	91 (96,81%)
Augmentin	13 (14,13%)	79 (83,87%)
Ticarcilline	6 (6,25%)	90 (93,75%)
Cefalotine	14 (14,43%)	83 (85,57%)
Cefotaxime	19 (22,35%)	66 (77,65%)
Cefoxitine	52 (53,61%)	45 (46,39%)
Ceftazidime	19 (22,35%)	66 (75,65%)
Imipenème	39 (82,98%)	8 (17,02%)
Gentamicine	53 (59,55%)	36 (40,45%)
Amikacine	94 (97,92%)	2 (2,08%)
Acide Nalidixique	15 (18,07%)	68 (81,93%)
Ciprofloxacine	36 (40,91%)	52 (59,09%)

L'amikacine et l'imipenème ont été les antibiotiques les plus actifs avec des fréquences respectives : 98% et 83%.

Tableau 10: Répartition des souches en fonction de la sensibilité aux autres antibiotiques testés.

Antibiotiques		Sensible (%)	Résistant (%)
Polymixnes	Colistine	44 (88,00%)	6 (12,00%)
Tétracycline	Doxycycline	3 (4,62%)	62 (95,38%)
Phénicol	Chloramphénicol	76 (82,61%)	16 (17,39%)
Autres	Sulfamide	1 (1,12%)	88 (98,88%)
	Triméthoprim	3 (3,85%)	75 (96,15%)

Parmi les autres antibiotiques testés, la colistine et Le chloramphénicol ont été les plus actifs avec respectivement **88 %** et de **82,61%** de sensibilité.

Tableau 11: Répartition des pathotypes en fonction de la sensibilité aux Beta-lactamines.

ATB testés		EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
Amoxicilline	Résistant	47 (97,92%)	54 (98,18%)	22 (91,67%)	0	2 (100%)
	Sensible	1 (2,08%)	1 (1,82%)	2 (8,33%)	0	0 (0%)
Ticarcilline	Résistant	48 (94,12%)	55 (98,21%)	23 (92,00%)	0	2 (100%)
	Sensible	3 (5,88%)	1 (1,79%)	2 (8,00%)	0	0 (0%)
Augmentin	Résistant	41 (83,67%)	48 (90,57%)	18 (78,26%)	0	1 (50%)
	Sensible	8 (16,33%)	5 (9,43%)	5 (21,74%)	0	1 (50%)
Cefalotine	Résistant	45 (89,23%)	50 (89,26%)	21 (84,00%)	0	1 (50%)
	Sensible	6 (11,76%)	6 (10,71%)	4 (16,00%)	0	1 (50%)
Cefotaxime	Résistant	34 (77,27%)	38 (80,86%)	17 (80,95%)	0	1 (50%)
	Sensible	10 (22,73%)	9 (19,15%)	4 (19,05%)	0	1 (50%)
Ceftazidime	Résistant	35 (76,09%)	39 (82,98%)	15 (75,00%)	0	1 (50%)
	Sensible	11 (23,91%)	8 (17,02%)	5 (25,00%)	0	1 (50%)
Cefoxitine	Résistant	21 (42,00%)	29 (51,79%)	16 (65,39%)	0	1 (50%)
	Sensible	29 (58,00%)	27 (48,21%)	9 (34,62%)	0	1 (50%)
Imipenème	Résistant	3 (12,50%)	7 (24,14%)	4 (40,00%)	0	0 (0%)
	Sensible	21 (87,50%)	22 (75,86%)	6 (60,00%)	0	2 (100%)

L'imipenème a été la molécule la plus active parmi les bêta-lactamines sur certains de nos pathotypes soit 87,50% pour EAEC et 75,86% pour EPEC.

Tableau 12 : Répartition des pathotypes en fonctions de la sensibilité aux autres antibiotiques testés.

Antibiotiques testés		EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
Amikacine	R	1 (2,04%)	0(0,00%)	2 (7,70%)	0	0 (0%)
	S	48 (97,96%)	57(100%)	24 (92,31%)	0	2(100%)
Gentamicine	R	21 (45,65%)	20(39,22%)	11 (55,00%)	0	0 (0%)
	S	25 (54,35%)	31(60,78%)	9 (45,00%)	0	2(100%)
Acide nalidixique	R	40 (83,16%)	44(86,27%)	19 (82,61%)	0	1(50%)
	S	8 (16,67%)	7(13,73%)	4 (17,39%)	0	1(50%)
Ciprofloxacine	R	29 (60,42%)	33(61,78%)	16 (61,54%)	0	0(0%)
	S	19 (39,58%)	20(37,74%)	10 (38,46%)	0	2(100%)
Chloramphénicol	R	8 (16,67%)	8(14,81%)	5 (20,83%)	0	0(0%)
	S	40 (83,33%)	46(85,19%)	19 (79,17%)	0	2(100%)
Doxycycline	R	35 (94,59%)	33(94,29%)	17 (100%)	0	2(100%)
	S	2 (5,41%)	2(5,71%)	0 (0,00%)	0	0(0%)
Colistine	R	5 (17,24%)	3(10,35%)	1 (7,14%)	0	0(0%)
	S	24 (82,76%)	26(89,66%)	13 (92,86%)	0	2(100%)
Sulfamides	R	46 (100%)	51(100%)	25 (100%)	0	2(100%)
	S	0 (0,00%)	0(0,00%)	0 (0,00%)	0	0(0%)
Triméthoprim	R	40 (95,24%)	45(95,74%)	20 (95,24%)	0	2(100%)
	S	2 (4,76%)	2(4,26%)	1 (4,76%)	0	0(0%)

R : Résistant ; S : Sensible

L'amikacine, la colistine et le chloramphénicol ont été les antibiotiques les plus actifs sur tous nos pathotypes.

➤ **Phénotypes de résistances :**

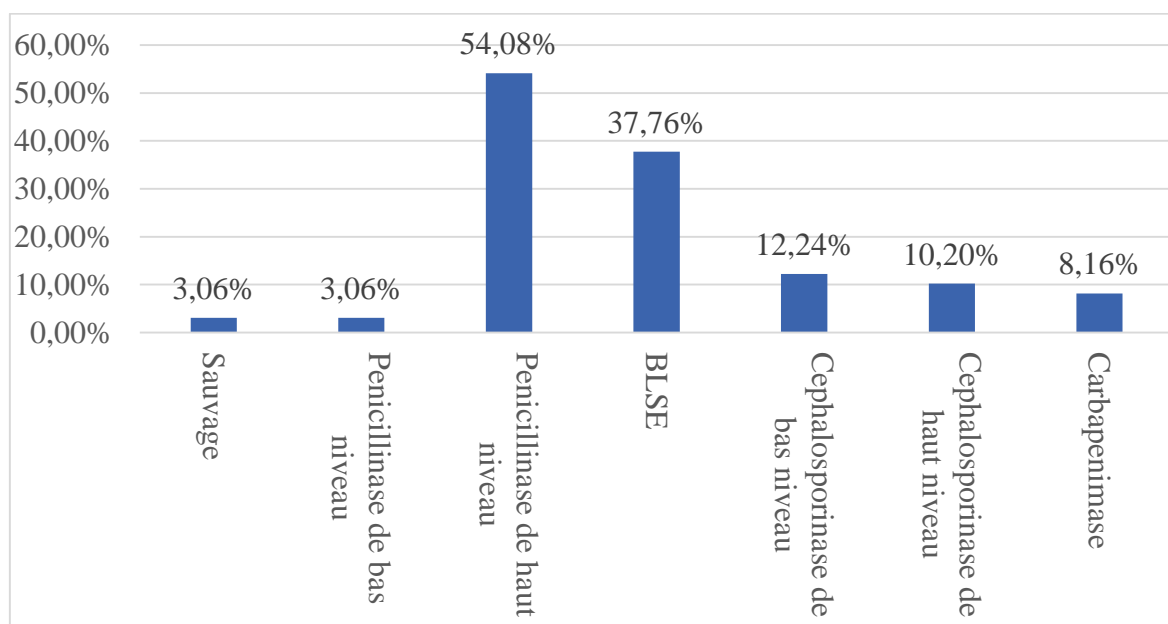


Figure 19: Répartition des souches *E coli* en fonction des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines.

La pénicillinase de haut niveau a été le phénotype le plus représenté soit 54,08%.

Tableau 13: Répartition des pathotypes en fonction des phénotypes de résistance aux bêta-lactamines.

Pathotypes	EAEC	EPEC	ETEC	EIEC	EHEC
N = 98, nombre (%)					
Sauvage	1,96%	1,75%	7,69%	0,00%	0,00%
Pénicillinase de bas niveau	1,96%	1,75%	7,69%	0,00%	0,00%
Pénicillinase de haut niveau	52,94%	56,14%	50,00%	0,00%	1,02%
BLSE	33,33%	26,32%	15,38%	0,00%	0,00%
Céphalosporinase de bas niveau	11,76%	12,28%	7,69%	0,00%	1,02%
Céphalosporinase de haut niveau	15,69%	14,04%	3,85%	0,00%	0,00%
Carbapénèmase	5,88%	12,28%	15,38%	0,00%	0,00%

Les pathotypes EAEC et EPEC ont été les plus multi-résistants aux bêta-lactamines sauf à l'imipénème où le pathotype ETEC a présenté plus de résistance.

DISCUSSION

5. DISCUSSION

Notre étude s'est déroulée de janvier 2020 au décembre 2021, sur 98 souches d'*Escherichia coli* isolées à partir de la coproculture au laboratoire CHU du Point « G ». Cette étude nous a permis mettre en évidence les difficultés pour la prise en charge adéquate des souches d'*Escherichia coli* isolées des selles. Nous avons isolé 98 pathotypes d'*Escherichia coli* par coproculture par les études phénotypiques, biochimiques et moléculaires réalisées sur ces échantillons collectés au laboratoire du CHU du Point « G » et au laboratoire de biologie moléculaire LBMA.

5.1. Résultats analytiques

5.1.1. Données épidémiologiques

Au cours de notre étude, nous avons observé une prédominance du sexe masculin avec 58% et 42% pour les femmes avec une sex-ratio de 1,04 (H/F= 1,04) en faveur des hommes.

Une étude réalisée à Niger sur la prévalence des gènes de virulence d'*Escherichia coli* au cours des gastroentérites aiguës chez les enfants en 2019 par **ABDOULAYE O et al** ont fait le même constat que nous soit 62% du sexe masculin contre 38% pour le sexe féminin [65].

Durant notre, l'âge moyen de nos patients était de 27 ans avec des extrêmes allant de 8 ans à 70 ans et la tranche d'âge la plus représentée était celle de 31- 45 ans.

Les services de néphrologie et des maladies infectieuses et tropicales ont été les plus représentés avec des fréquences respectives : 47,56% et 31,25%. Ces 2 services contiennent une file de patients souffrant de maladies chroniques (IRC, le VIH, les Hépatites...) pouvant affecter leur l'immunité [66], et la prise en charge est souvent compromise du fait de la demande croissante des services de soins notamment pour les maladies rénales mais aussi à l'inobservance et au non-respect des mesures diététiques chez certains de ces patients. Ces facteurs peuvent rendre les malades de ces services plus vulnérables.

5.1.2. Les pathotypes

Dans notre étude, nous avons détecté plusieurs pathotypes d'*E coli* ; le pathotype *E coli* entéroagréatifs (EAEC) a été isolé chez 51 patients soit 52,04%. Notre fréquence a été nettement supérieure à celle obtenue par **Aijuka et al.** en Afrique du Sud en 2018 avec 24 % de détection du pathovars EAEC [67], et par **Abdoulaye et al** en 2020 au Niger dans une étude menée sur la prévalence des gènes de virulence d'*Escherichia coli* au cours des gastroentérites aiguës chez les enfants qui ont trouvé 2,9% de EAEC [65].

Beaucoup d'études ont rapporté que le pathovars EAEC est un pathogène émergent affectant aussi bien les adultes que les enfants [68].

Durant notre étude, le pathotype *E coli* entéropathogènes (EPEC) a été le plus fréquemment détecté avec une fréquence de 59,18%. Nos fréquences ont été supérieures à celles obtenues notamment au Brésil par **Taborda RLM** en 2018 avec 43,8% [69], et une autre étude faite chez les enfant à Ouagadougou au Burkina Faso par **Ali Konaté** en 2017 sur caractérisation moléculaire d'*Escherichia coli* diarrhéique chez les enfants de moins de 5 ans souffrant de diarrhée qui a apporté EPEC (25,8 %) [70].

Dans notre présente étude le pathotype *E coli* Entérotoxinogènes (ETEC) avait été isolé chez 26 patients soit 29,55%. Ces pourcentages ont été supérieurs à ceux obtenus en Iran par **Ben Salem et al** en 2014 soit 21% ETEC [71]. ,en Tunisie par **Al-Gallas N et al** en 2007 soit 32,3% [72]. et à Ouagadougou au Burkina Faso, une étude faite sur les enfants par **Ali Konaté** en 2017 sur la Caractérisation moléculaire d'*Escherichia coli* diarrhéique chez les enfants de moins de 5 ans souffrant de diarrhée qui a apporté ETEC 3,2 % [70].

Au cours de notre étude le pathotypes EIEC n'avait pas été détecté. L'absence de ce pathotype peut être expliqué par le fait que nos patients étaient des adultes et cette faible prévalence des pathovars EIEC a déjà été rapportée par **Vilchez et al** au Nicaragua en 2009 soit 1,9% EIEC [73].

Au cours de notre étude, *E coli* entérohémorragique (EHEC) a été détecté dans 2,04% des cas ; au Niger dans une étude mené sur la prévalence des gènes de virulence d'*Escherichia coli* au cours des gastroentérites aigues chez les enfants, **Abdoulaye et al** en 2020 ont eu une prévalence de 1,1% de EHEC qui est proche de notre étude[65].

Des combinaisons de 2 gènes de virulence ont également été détecté au cours de notre étude soit : 35,23% pour EAEC + EPEC, 18,18% pour EPEC+ETEC, 12,50% pour EAEC+ETEC, ainsi qu'une combinaison de 3 gènes de virulence (EAEC+EPEC+ETEC) soit 9,9%.

Abdoulaye et al en 2020 ont aussi rapporté des variantes de combinaison mixtes deux (2) ou trois (3) gènes de virulences dans leur étude mené au Niger soit (6,8%) pour EIEC+EAEC, (0,7%) pour EIEC+EHEC,(0,4%) pour EPEC+EIEC et (1,1%) pour EPEC+EIEC+EAE [65].

5.1.3. Résistance aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*

▪ Aux bêta-lactamines

L'étude de la résistance aux antibiotiques de nos souches a mis en évidence des résistances pour chaque groupe de la famille des bêta-lactamines et la majorité de nos souches exprimait une résistance très élevée aux bêta-lactamines.

Au cours de notre étude, la résistance des *E coli* à l'amoxicilline était de 96,81%, Au Mali en 2022 au INRSP, **Guindo et al** ont obtenu une fréquence inférieure a notre de 86,4% à amoxicilline [74].

L'association amoxicilline + acide clavulanique était inactive avec une fréquence de résistance de 82,92%. notre fréquence de résistance a été supérieure à celle obtenue au Mali en 2022 à l'INRSP par **Guindo et al** qui était de 59,5% résistance à l'association amoxicilline + acide clavulanique [74].

Durant notre étude, nous avons obtenu une fréquence de résistance à la ticarcilline de 77,65%. Au Mali en 2022 l' INRSP, **Guindo et al** ont obtenu une fréquence supérieure à la nôtre pour la ticarcilline 89,2% [74].

La ceftazidime n'a pas été actif sur nos souches notre étude avec une fréquence de sensibilité de 17,02% par contre en 2022 au Mali à l'INRSP **Guindo et al** ont obtenu une sensibilité très élevée à la ceftazidime de 86,5% [74].

Ce taux de résistance élevé pourrait être expliqué par l'utilisation abusive de ces antibiotiques dans nos structures sanitaires mais aussi par l'automédication.

A travers ces résultats, nous constatons que les pénicillines ainsi que les céphalosporines, ont atteint des niveaux de résistance élevés posant ainsi des sérieux problèmes de prise en charge adéquate de ces infections à *E coli*.

Durant notre étude, l'imipenème a montré une bonne activité sur la quasi-totalité de nos souches testées soit 82,98% de sensibilité, au Mali une étude menée chez les enfants de zéro à cinq ans par **Guindo et al** au Mali en 2022 ont montré une sensibilité similaire à la nôtre de 89,2% [74].

En 2022 au Mali, **Boï Koné** a obtenu un pourcentage de sensibilité supérieur à la nôtre de 94,1% [75].

Cela se traduit par le fait que cet antibiotique est réservé à l'usage hospitalier et le coût est excessivement cher.

▪ Aux aminosides

Durant notre étude, nos souches ont été moins sensible à la gentamicine (59,55%) et très sensible à l'amikacine (97,92%). Pour la gentamicine nos souches ont été moins sensibles que celles **Guindo et al** au Mali avec une sensibilité de 67,6 % par contre l'amikacine a été plus active sur nos souches que celles de **Guindo et al** soit 70,2% [74].

En 2022 au Mali, **Boï Koné** avait trouvé un taux de sensibilité nettement supérieur à la nôtre de 78,8% pour la Gentamicine [75].

▪ Aux quinolones

Nos résultats ont montré que les deux molécules testées de la famille des quinolones sont moins actives sur nos souches avec respectivement pour la Ciprofloxacine 59,09% et 81,93%

pour l'acide nalidixique. En 2022 au Mali, **Boï Koné** a obtenu un pourcentage de résistance à la nôtre 45,41% [75].

Cette résistance élevée peut être justifié dans le fait que ces deux molécules sont les plus prescrites dans les différents traitements infectieux à l'hôpital mais aussi en milieu communautaire.

- **Aux autres antibiotiques testés**

D'autre part, pour les autres antibiotiques testés, *E coli* présentait une très bonne sensibilité au chloramphénicol (82,61%) et la colistine (88,00%). Au Mali **Guindo et al** ont eu une fréquence de sensibilité supérieur à la nôtre de 94,6% au chloramphénicol [74].

En 2022 au Mali par **Boï Koné** [75].

5.1.4. Phénotypes de résistance

Nos souches ont été productrices de : BLSE (37,76%), PBN (3,06) PHN (54,08%), Sauvages (3,06), CBN (12,24 %), CHN (10,20%) et de carbapénemases (8,16%). En 2022 au Mali, **Boï Koné** a eu une fréquence de BLSE supérieure à la nôtre de 49,41% et a isolé moins de souches productrices de carbapénémases soit 5,89% [75].

Durant notre période d'étude, nous avons remarqué qu'EPEC a été le pathotype le plus représenté pour le phénotype de résistance de pénillinase de haut niveau soit 56,14%, EAEC a été le pathotypes le plus représenté pour le phénotype de résistance BLSE soit 33,33%, EAEC a été le pathotypes le plus représenté pour le phénotype de résistance céphalosporinase de haut niveau soit 15,69% et EPEC a été le pathotype le plus représenté pour le phénotype de résistance carbapénèmase soit 15,38%.

5.2. Difficultés et limites de l'étude

Nous avons rencontré des difficultés en ce qui concerne les informations et les renseignements cliniques des patients.

Nous n'avons pas pu faire la recherche des gènes de résistance pour faire une association entre les pathotypes et les phénotypiques de résistance.

Nous n'avons pas puis faire aussi le séquençage des gènes pour mieux étudier l'association des gènes de pathotypes.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

6. CONCLUSION

Cette étude est d'une grande importance pour la prise en charge adéquate des gastro-entérites chez les adultes due à *Escherichia-coli* ; et a donné un aperçu sur les pathotypes incriminés dans les gastro-entérites chez l'adulte et leur profil de résistance au CHU du Point « G » à Bamako.

Cette étude confirme les rapports selon lesquels l'usage d'un certain nombre d'antibiotiques n'est plus efficace pour traiter les infections dues à cette bactérie problématique.

Les antibiotiques les plus actifs ont été : l'amikacine, l'imipénème, le chloramphénicol et la colistine.

Cette résistance très élevée à la plupart de ces antibiotiques testés pose des grandes inquiétudes pour la prise en charge adéquate des gastro-entérites à *Escherichia coli* chez l'adulte particulièrement en milieu hospitalier.

7. RECOMMANDATIONS

➤ **Au Centre hospitalier universitaire du CHU du Point « G »**

- Renforcer la capacité du laboratoire en vue de faire des études de biologie moléculaire.
- Approvisionner le laboratoire de façon continue en réactifs et consommables.
- Faire une étude avancée au service de la néphrologie sur les gastro-entérites due à *Escherichia coli* chez les adultes.

➤ **Aux prescripteurs et pharmaciens**

- Adapter la prescription à l'antibiogramme.
- Délivrer les antibiotiques uniquement sur prescription.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

1. Principaux repères de l'OMS sur la sécurité sanitaire des aliments [Internet]. [cité 23 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
2. Clarke SC. Diarrhoeagenic *Escherichia coli*--an emerging problem? *Diagn Microbiol Infect Dis.* nov 2001;41(3):93-8.
3. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. 1983;12(308):681-5.
4. Mueller M, Tainter CR. Infection à *Escherichia coli*. 2023 juil. 13. Dans: StatPearls [Internet]. L'île au trésor (Floride) : StatPearls Publishing ; 2023 janv.
5. Jang J, Hur HG, Sadowsky MJ, Byappanahalli MN, Yan T, Ishii S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *J Appl Microbiol.* sept 2017;123(3):570-81.
6. Riley LW. Distinguishing Pathovars from Nonpathovars: *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* déc 2020;8(4).
7. Cravioto A, Trujillo F, León LA, Hernández JM, Eslava C. [Infections caused by enteropathogenic *Escherichia coli*]. *Gac Med Mex.* 1996;132(6):611-5.
8. Okeke IN, Lamikanra A, Czeczulin J, Dubovsky F, Kaper JB, Nataro JP. Heterogeneous virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children in Southwest Nigeria. *J Infect Dis.* janv 2000;181(1):252-60.
9. Okeke IN. Diarrheagenic *Escherichia coli* in sub-Saharan Africa: status, uncertainties and necessities. *J Infect Dev Ctries.* 27 nov 2009;3(11):817-42.
10. Albert MJ, Faruque SM, Faruque AS, Neogi PK, Ansaruzzaman M, Bhuiyan NA, Alam K, Akbar MS. Controlled study of *Escherichia coli* diarrheal infections in Bangladeshi children. *J Clin Microbiol.* 1995 Apr;33(4):973-7.
11. Kalambry AC, Gaudré N, Dramé BSI, Poudiougou A, Kassogué A, Koné H, Diarra A. Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées des prélèvements urinaires à l'Hôpital du Mali. *Rev Mali Infect Microbiol* 2019, Tome 14.7p

12. Mueller M, Tainter CR. *Escherichia coli*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 16 févr 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
13. Germani Y, Le Bouguéne C. Diagnostic des *Escherichia coli* agents de diarrhée chez l'homme. Rev Francoph Lab. 1 janv 2008;2008(400):67-76.
14. Mainil J. *Escherichia coli* virulence factors. Vet Immunol Immunopathol [Internet]. 15 mars 2013 [cité 8 févr 2023];152(1):2-12.
15. M.L. Loiseau-Marolleau, Z.N. Bentaiba, A propos d'une contamination infra-clinique à *Escherichia coli* non entéropathogène: Intérêt épidémiologique de la sérotypie, Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 6, Issue 9, 1976, Pages 319-322,
16. Taxonomie et classification - Genre *Escherichia* [Internet]. [cité 13 févr 2023]. Disponible sur: <https://123dok.net/article/taxonomie-et-classification-genre-escherichia.y6je784q>
17. Caractères morphologiques et cultureux - Aliments impliqués [Internet]. [cité 20 févr 2023]. Disponible sur: <https://123dok.net/article/caract%C3%A8res-morphologiques-et-cultureux-aliments-impliqués.zlgn142y>
18. BATRA S. Paramedics World. *Morphology and culture characteristics of Escherichia coli (e.coli) | bacteriology notes*. publié 17 mai 2018. Disponible sur: <https://paramedicsworld.com/escherichia-coli/morphology-culture-characteristics-of-escherichia-coli/medical-paramedical-studynotes>
19. Bing [Internet]. Coloration de gram. Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=coloration+de+gram+&qsn=&form=QBIDMH&sp=-1&lq=0&pq=coloration+de+gram+&sc=10-19&sk=&cvid=03126B31E5764697901B47447F74D42C&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=>
20. Danielle CLAVE. *Enterobacteriaceae E. coli est l'espèce type du genre Escherichia*: Fiche technique _ Bactériologie. CHU TOULOUSE. 13 Novembre 2015 ; 2p

21. Oulymata G. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 2007; 120P.
22. Bing [Internet]. [Cité 8 oct 2023]. Identification des *e coli* sur api 20 e. Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=identification+des+e+coli+sur+api+20e&qsn&form=QBIDMH&sp=-1&lq=0&pq=identification+des+e+coli+sur+api+20e&sc=10-37&sk=&cvid=BF9CBD22D8FD4AF0BD6C73D7DCC08889&ghsh=0&ghacc=0&ghpl>
23. Clave D. Fiche technique : *Escherichia coli*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.2012. 123 : 8-543.
24. Nguyen TH, Ferrando R. L'écologie microbienne du tube digestif au service de l'élevage des animaux domestiques. Bull Académie Vét Fr. 1988;141(3):351-8.
25. Smati M, Clermont O, Bleibtreu A, Fourreau F, David A, Daubié AS, et al. Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. MicrobiologyOpen. 2015 ;4(4):604-15.
26. Griffiths.A.J.K ., wessler.S.R., carroll.S.B., doebly.J.(2013 . introduction l'analyse génétique édition,paris.p173.
27. Kern-Bernaibout E.M.*Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'homme : Synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission l'homme par la contamination de l'environnement. [Thèse] : Méd. Vét : Toulouse : ENVT. Université Paul-Sabatier, 2006 .141p.
28. Winter P.C., Hickey G.I et Flectcher H.L., (1999). Génétique. Chapitre A : Génétique moléculaire, chapitre E : la technologie de l'ADN recombinant. Edi. Berti,Paris-France 1999 .pp.50-332.
29. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol [Internet]. févr 2004 [cité 21 févr 2023];2(2):123-40. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>

30. Gomes, Tânia A T et al. « *Escherichia coli* diarrhéogène. » Revue brésilienne de microbiologie : [publication de la Société brésilienne de microbiologie] vol. 47 Suppl 1, Suppl 1 (2016): 3-30.
31. Ammon A. Surveillance des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en Europe. Eurosurveillance [Internet]. 1 déc 1997 [cité 21 févr 2023];2(12):91-6. Disponible sur: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/esm.02.12.00133-fr>
32. Techno-Science.net [Internet]. [cité 21 févr 2023]. *Escherichia coli* - Définition et Explications. Disponible sur: <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Escherichia-coli.html>
33. Liu B, Furevi A, Perepelov AV, Guo X, Cao H, Wang Q, et al. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. FEMS Microbiol Rev [Internet]. 24 nov 2020 [cité 23 févr 2023];44(6):655-83. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>
34. Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piazza RMF, et al. Diarrheogenic *Escherichia coli*. Braz J Microbiol Publ Braz Soc Microbiol. déc 2016;47 Suppl 1(Suppl 1):3-30.
35. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. Environ Microbiol Rep. févr 2013;5(1):58-65.
36. Harel J, Salcedo S, Bonacorsi ES, Loukiadis E. Virulence des *Escherichia coli* entérohémorragiques : rôle central du monoxyde d'azote dans le devenir de l'infection et identification de nouveaux déterminants impliqués dans l'adaptation du pathogène à l'environnement digestif. 2019;
37. Germani Y, Le Bouguéneq C. Diagnostic des *Escherichia coli* agents de diarrhée chez l'homme. Rev Francoph Lab [Internet]. 1 janv 2008 [cité 21 janv 2023];2008(400):67-76. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773035X08801025>
38. Aryal S. *E. coli* Pathotypes - ETEC, EPEC, EHEC, EAEC, EIEC, DAEC [Internet]. January 12;2022 [cité 14 févr 2023]. Disponible sur: <https://microbenotes.com/e-coli-pathotypes-etec-epec-ehec-eaec-eiec-daec/>

39. Zhang Y, Tan P, Zhao Y, Ma X. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota. *Gut Microbes* [Internet]. 31 déc 2022 [cité 13 févr 2023];14(1):2055943. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2055943>
40. Wang H, Zhong Z, Luo Y, Cox E, Devriendt B. Heat-Stable Enterotoxins of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Their Impact on Host Immunity. *Toxins* [Internet]. 8 janv 2019 [cité 12 févr 2023];11(1):24. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6356903/>
41. Mueller M, Tainter CR. *Escherichia coli*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 15 févr 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
42. Harrington SM, Dudley EG, Nataro JP. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS Microbiol Lett*. janv 2006;254(1):12-8.
43. Destable É. Rôle de Paa dans la pathogénicité des *Escherichia coli* attachants et effaçants (AEEC). 4 déc 2008 [cité 6 juill 2023]; Disponible sur: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/7179>
44. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, de Valk H, King LA, Le Hello S, et al. Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Med Mal Infect*. mai 2018;48(3):167-74.
45. Goro AA. Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020 [Thèse] Bamako . USTTB; 2021.90p Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/4658>
46. Bouskraoui M. ; Zouhair S ; Soraa N ; Benaouda A ; Zerouali K et Mohamoud M. SOMAPEV. Guide des bactéries pathogènes. 2017;15(11).
47. Bing [Internet]. [cité 8 oct 2023]. mecanisme des antibiotiques. Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=mecanisme+des+antibiotiques+&qsn&form=QBIDMH&sp=-1&lq=0&pq=mecanisme+des+antibiotiques+&sc=2-28&sk=&cvid=B39D2C74FDA04D1C917A6731FC170DEE&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=>

48. hafida meddour, amel menai. *Effet Inhibiteur De Certaines Huiles Essentielles Sur Escherichia coli Blse Responsable D'infections Urinaires D'origine Hospitalière Jury* : Mlle. Hanane Achour.MEMOIRE DE MASTER. Université Mohamed Khider - Biskra, 10 juillet 2019;69p.
49. Ahmed ZB, Ayad A, Mesli E, Messai Y, Bakour R, Drissi M. CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in the intensive care unit of Tlemcen Hospital, Algeria. *East Mediterr Health J Rev Sante Mediterr Orient Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit.* avr 2012;18(4):382-6.
50. Librairie Quae [Internet]. [cité 21 juin 2023]. Les antibiotiques, c'est la panique ! - Les solutions pour lutter contre la résistance des bactéries... - Étienne Ruppé (EAN13 : 9782759227594) | Librairie Quae : des livres au coeur des sciences. Disponible sur: <https://www.quae.com/produit/1512/9782759227594/les-antibiotiques-c-est-la-panique>
51. Philippon A, Arlet G. Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotypes de résistance naturelle. *Pathol Biol* [Internet]. 1 avr 2012 [cité 21 juin 2023];60(2):112-26. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811411001775>
52. YALA D, MERAD AS, MOHAMED D, OUAR KORICH MN. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Med Maghreb.*2001 ; 91: 1-8.
53. TERKJA DN. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen [Mémoire de master de Microbiologie]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen ; 2013.
54. Amel A. Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. [Thèse]. Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, 2017; 174p.
55. Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997 Sep;61(3):377-92.
56. Mohamed Chrif EL BOUAMRI. Etude epidemio-moleculaire des enterobacteries productrices de β -lactamases a spectre elargi au CHU de Marrakech.[thèse]. UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT;juillet 2017; 144p

57. Abir R. Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses. 2014 [cité 21 juin 2023]; Disponible sur: <https://dspace.univ-annaba.dz//handle/123456789/1603>
58. KHAYAR Yassine. Comportement des enterobacteries isolees des urines vis-a-vis de l'amoxicilline – acide clavulanique l'imipeneme et l'ertapeneme [Thèse]. Université Mohamed V -Rabat. 2011.
59. 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 [phdthesis]. Université Rennes 1; 2009. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00449376>
60. Touré AM. Etude de la résistance aux antibiotiques des bacilles à gram négatifs non fermentaires dans un laboratoire privé d'analyses biomédicales à Bamako [Thèse]. USTTB; 2022 . Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5643>
61. FERRON A. Bactériologie médicale. 15^{eme} C et R. 157-163 p.
62. Bing [Internet]. [cité 8 oct 2023]. (<https://massartante.com/aa-eosine-methylene-bleu/>). Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=%28https%3A%2F%2Fmassartante.com%2Faa-eosine-methylene-bleu%2F&qs=n&form=QBIDMH&sp=-1&lq=0&pq=%28https%3A%2F%2Fmassartante.com%2Faa-eosine-methylene-bleu%2F&sc=0-50&sk=&cvid=DB38B0EA99EB4579953FB9D857B716D7&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=>
63. Bing [Internet]. [cité 8 oct 2023]. <https://sogemed.tn/produit/gelose-muller-hinton/>). Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=https%3A%2F%2Fsogemed.tn%2Fproduit%2Fgelose-muller-hinton%2F%29&qs=n&form=QBIDMH&sp=-1&lq=0&pq=&sc=10-0&sk=&cvid=A02767BAEF1F49E6BA12F3E78EEF72E7&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=>
64. Bing [Internet]. [cité 23 juill 2023]. Image d'un PTC-200 Thermocycleur avec bloc alpha de puits 384. Disponible sur: <https://www.bing.com/images/search?q=Image+d'un+PTC->

200+Thermocycleur+avec+bloc+alpha+de+puits+384&form=HDRSC3&first=1&cw=1351&ch=641

65. Abdoulaye O , Abdoulaye I, Maiga DA ,Kourna M, Harouna Amadou ML, Douchi M, Bahari KD, Biraima A, Amadou O, Illa M, Ousmane S, Amadou S, Arzika II, Issa M, Ouedraogo AS. Prevalence of *Escherichia coli* virulence genes during acute Gastroenteritis in children less than 5 years of age at the Biology Laboratory of Niamey National Hospital. Health Sci. Dis : Vol 21 (7) July 2020.
66. A J, A C, P MK, C R, A H. Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome : A Narrative Review. Toxins [Internet]. 21 janv 2020 [cité 23 juill 2023];12(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31973203/>
67. Aijuka M, Santiago AE, Girón JA, Nataro JP, Buys EM. Enteroaggregative *Escherichia coli* is the predominant diarrheagenic E. coli pathotype among irrigation water and food sources in South Africa. Int J Food Microbiol. 2 août 2018;278:44-51.
68. Aslani MM, Alikhani MY, Zavari A, Yousefi R, Zamani AR. Characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) clinical isolates and their antibiotic resistance pattern. Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis. févr 2011;15(2):e136-139.
69. Taborda RLM, Silva LA da, Orlandi PP, Batista FS, Rodrigues RS, Matos NB. Characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* among diarrheal children in western Brazilian Amazon. Arq Gastroenterol. déc 2018;55:390-6. Disponible sur: <http://www.scielo.br/j/ag/a/WDGX9DHxhZL7VMCLF4ftqrD/?lang=en>
70. Konaté A, Dembélé R, Kagambèga A, Soulama I, Kaboré WAD, Sampo E, et al. Molecular Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* in Children Less Than 5 Years of Age with Diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. Eur J Microbiol Immunol . sept 2017;7(3):220. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632749/>
71. Ben Salem-Ben Nejma I, Hassine Zaafrane M, Hassine F, Sdiri-Loulizi K, Ben Said M, Aouni M, et al. Etiology of Acute Diarrhea in Tunisian Children with Emphasis on Diarrheagenic *Escherichia coli*: Prevalence and Identification of E. coli Virulence Markers. Iran J Public Health. juill 2014;43(7):947-60.

72. Al-Gallas N, Bahri O, Bouratbeen A, Ben Haasen A, Ben Aissa R. Etiology of acute diarrhea in children and adults in Tunis, Tunisia, with emphasis on diarrheagenic *Escherichia coli*: prevalence, phenotyping, and molecular epidemiology. *Am J Trop Med Hyg.* sept 2007;77(3):571-82.
73. Nguyen TV, Le Van P, Le Huy C, Gia KN, Weintraub A. Detection and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol.* févr 2005;43(2):755-60.
74. Ibrehima Guindo, Alhadji Alassane Dicko, Issa Konaté, Karamoko Sacko, Mahamadou Abdou1, Sounkalo Dao, Flabou Bougoudogo. Facteurs de Pathogénicité et Résistance aux Antibiotiques des Souches d'*Escherichia coli* isolées chez les Enfants Diarrhéiques de 0 à 59 Mois en Milieu Communautaire à Bamako. *Health Sci. Dis: Vol 23* (5) May 2022 p 49-56;
75. 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]. USTTB; 2023. Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5914>

FICHE SIGNALETIQUE :

Nom : TOUNKARA

Prénom : N'faly

TEL : (00223) 82 55 90 77 / 52 43 24 27

Adresse E-mail : nfalytounkara82@yahoo.fr

Année universitaire : 2022-2023

Pays : Mali

Titre de thèse : Sérotypage des souches *d'Escherichia coli* isolés par coproculture aux CHU du Point « G ».

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

SECTEUR D'INTERET : Bactériologie, Santé publique.

Résumé : les gastro-entérites due à *E coli* est un problème majeur de santé publique, qui nécessite une prise en charge adéquate en particulier chez les adultes.

Notre objectif principal était d'étudier les sérotypes et la sensibilité des souches d'*Escherichia coli* isolées par coproculture.

Au total, nous avons isolé 98 souches d'*E coli* provenant de divers services cliniques. Le sex-ratio était de 1,04 en faveur des hommes. L'âge moyen de nos patients était de 27 ans avec des extrêmes de 8 à 70 ans. Le service de néphrologie a été le plus représenté soit 46,43%. Nous avons détecté huit gènes de virulence d'*E coli* avec des prévalences respectives pour EPEC (59,18%) ; EAEC (52,04%) ; ETEC (26,53%) ; EHEC (2,04%) dont quatre gènes mixtes de virulence : EAEC+EPEC (31,63%) ; EPEC+ETEC (16,32%) ; EAEC+ETEC (11,22%) ; et EAEC+ETEC+EPEC (8,16%).

Aucune souche de pathotype EIEC n'a été détecté.

L'imipénème, chloramphénicol, l'amikacine et la colistine, ont été les antibiotiques les plus actifs soient 82,98%, 82,61%, 97,92% et 88% respectivement.

La plupart de nos souches ont été productrices de pénicillinase de haut niveau (54,68%) et de béta-lactamases à spectre élargi (37,76 %), la production de carbapénèmase a été de 8,6%.

Mots clés : *E coli* ; pathotype, Résistance, Antibiotiques, Virulence, CHU du Point G.

Abstract: Gastroenteritis due to *E coli* is a major public health problem, which requires adequate management especially in adults. Our main objective was to investigate the serotypes and susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated by coproculture.

In total, we isolated 98 strains of *E coli* from various clinical departments. The sex ratio was 1.04 in favor of men. The mean age of our patients was 27 years with extremes ranging from 8 to 70 years. The nephrology department was the most represented at 46.43%. We detected eight *E coli* virulence genes with respective prevalences for EPEC (59.18%); EAEC (52.04%); ETEC (26.53%); EHEC (2.04%) including four mixed virulence genes: EAEC+EPEC (31.63%); EPEC+ETEC (16.32%); EAEC+ETEC (11.22%); and EAEC+ETEC+EPEC (8.16%).

No strains of EIEC pathotype were detected.

Imipenem, chloramphenicol, amikacin and colistin were the most active antibiotics at 82.98%, 82.61%, 97.92% and 88% respectively.

Most of our strains were producing high-level penicillinase (54.68%) and broad-spectrum beta-lactamases (37.76%), carbapenemase production was 8.6%.

Keywords : *E coli* ; pathotype, Resistance, Antibiotics, Virulence, CHU du Point « G ».

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 des actes criminels ;
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;
- Que je sois couvert d'opprobres et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !