

M.B. 13107

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de
La recherche scientifique

Université de Jijel-faculté des sciences
Département de biologie cellulaire et
Moléculaire

جامعة محمد السادس بن باديش
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجزء : 12.29



Mémoire

En vue de L'obtention du Diplôme
D'Etudes Supérieures en Biologie (DES)
Option : Microbiologie

thème

	<p>Détermination des concentrations minimales inhibitrices Aux antibiotiques pour 16 souches d'E.coli</p>	
--	--	--

Membres de jury :

Examinatrice : M^{lle} Laggoune S.

Encadreur : M.r Boudjerda Dj.

Présenté par :

Soufane Leila.

Benalileche Wassila.

Bouchema Nabila.



promotion 2008

Remerciement

*Avec nos profonds sentiments de respect et de reconnaissance, nous tenons à
Présenter nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin, ont
contribué à
L'élaboration de ce mémoire.*

*Mr.Boudjerda D. qui a dirigé ce travail, pour ses conseils de valeur et ses
Orientations constructives et surtout ses encouragements.*

*Nous remercions également Laggoune S. de bien vouloir examiner et juger
le contenu
de notre mémoire, ainsi tous les enseignants du département de biologie de
l'université de
Jijel, qui nous avons transmis leurs savoir durant les quatre années d'étude.
Tous les techniciens du laboratoire de bactériologie de l'institut de biologie*

*Nous tenons à remercier aussi Mr.Khanouf T. pour tout ce qu'il a fait pour nous.
Un immense merci à nos familles, nos chers amis et collègues pour leur affection,
leur amitié et leur fidélité.*

A tous, notre profonds respects et remerciements.

Leila, wassila, nabila

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I: Généralités

I.les Entérobactéries.....	2
I.1.Définition.....	2
I.2.Caractères bactériologiques et morphologiques	2
I.3.Classification.....	2
I.4.Habitat.....	3
I.5.Caractères cultureux.....	3
II. <i>Escherichia coli</i>	3.
II.1.Historique.....	3
II.2.Définition.....	4
II.3.Classification.....	4
II.4.Habitat naturel d' <i>Escherichia coli</i>	4
II.5.Caractères morphologiques et cultureux.....	5
II.6.Caractères biochimiques.....	5
II.7.Caractères antigéniques.....	5
II.8.Milieus de culture pour <i>E.coli</i>	6
II.9.Pouvoir pathogène.....	6
II.10.Les facteurs de pathogénicité.....	8.

Chapitre II: les Antibiotiques et notion d' Antibiorésistance

I.Antibiotiques.....	9
I.1. Historique	9
I.2 Définition des antibiotiques.....	9
I.3.origines des antibiotiques.....	9
I.4. Classification	10

II. Notion d' Antibiorésistance.....	16
II.1. Définition.....	16
II.2. Mécanisme de résistance	16
➤ Résistance naturelle.....	16
➤ Résistance acquise.....	16
II.3. Causes et conséquences.....	17

Chapitre III: Antibiogramme et CMI

I. Antibiogramme.....	18
I.1. Définition.....	18
I.2. technique.....	18
II. CMI.....	18
II.1. Définition.....	18
II.2. technique.....	19
III. CMB.....	19
III.1. Définition.....	19

Partie pratique :

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. Matériels et méthodes :

I.1. Matériels :

I.1.1. Appareillage.....	20
I.1.2. Milieux utilisés.....	20
I.1.3. Les réactifs.....	20
I.1.4. Matériel biologique.....	21

I.2. Méthodes de travail :

I.2.1. L'origine des souches.....	23
I.2.2. Choix des souches.....	23
I.2.3. Isolement des souches.....	23
I.2.4. Purification des souches.....	23
I.2.5. Identification des souches.....	24

I.2.5.1.Examen macroscopique.....	24
I.2.5.2.Examen microscopique(coloration de Gram).....	24
I.2.6. ...L'antibiogramme.....	26
I.2.7.Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	27

Chapitre II : Résultats et discussion

Conclusion.....	52
------------------------	-----------

Annexes

Références bibliographiques

LISTE DES ABRIVIATIONS

ATB : Antibiotique.
CMI : concentration minimale inhibitrice.
SM : solution mère.
°C : degré celsius.
µl : microlitre.
ml : milli- litre.
N° : numéro.
1^{ere} : première.
2^{eme} : deuxième.
3^{eme} : troisième.
TE : Tétracycline.
AMX : Amoxicilline.
AM : Ampicilline.
C : Chloramphénicol.
CS : Colistine.
SSS : Sulfonamide.
S : Streptomycine.
Lps : lipopolysaccharides
Lac : lactose.
ONPG : Ortho -nitrophényl galactosidase.
Man : manitol.
Cit : citrate
Ind : indole.
LDC : lysine désoxycolate.
ODC : ornithine désoxycolate.
RM : rouge de methyl.
VP : voge-Proskaur.
Mob : mobilité.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : les caractères biochimiques d' <i>E.coli</i> .	05
Tableau n°2 : Classification des antibiotiques.	14
Tableau n°3 : Identification des souches d' <i>E.coli</i> .	21
Tableau n°4 : liste des disques d'antibiotiques à testés.	22
Tableau n°5 : les antibiotiques pour détermination de CMI.	23
Tableau n°6 : la représentation des solutions mères et des dilutions.	30
Tableau n°7 : Identification des souches qui on utilise pour déterminer la CMI	32
Tableau n°8 : pourcentage et le nombre des souches d'E.coli résistantes et sensibles aux ATB.	34

LISTE DES FIGURES :

Figure n°1 : schéma de préparation de solution mères et les dilutions	31
Figure n°2 : Résultat de la purification des souches <i>d'E.coli</i> .	33
Figure n°3 : Résultat de coloration de Gram <i>d'E.coli</i> .	33
Figure n°4 : Résultat de la méthode de diffusion sur gélose (antibiogramme).	35
Figure n°5 : Résultat de détermination de la CMI au Amoxicilline	41
Figure n°6 : Résultats de détermination de la CMI au l' Ampicilline.	43
Figure n° 7 : Résultats de détermination de la CMI au Streptomycine.	46
Figure n°8 : Résultats de détermination de CMI au Thiamphénicol	49

Introduction

Introduction :

Eschérichia coli ou colibacille est le germe le plus fréquent et le plus étudié sur le plan de pathologie humaine, car il est responsable de diverses infections urinaires, digestives, sanguines, génitales (Eyquem et al ., 1998).

Certaines souches d'*Eschérichia coli* sont virulentes capable de déclencher spécifiquement chez l'homme et certaines espèces animales, évoqués l'apparition des souches antibiorésistances (Berche et al ., 1981).

La résistance microbienne à un antibiotique, à un agent chimiothérapeutique ou à d'autres produits chimiques peut survenir pour plusieurs raisons, parmi ces mécanismes de résistance sont la résistance naturelle et résistance acquise (Kessal 1986).

Dans le but d'une contribution à l'étude de l'effet des antibiotiques sur différentes souches d'*Eschérichia coli*, nous nous sommes proposé à faire un travail qui se divise en 2 parties : une partie bibliographique et une partie expérimentale qui a pour but de vérifier la sensibilité au antibiotique de 28 souches d'E.coli, avec détermination de la concentration minimale inhibitrice à certains antibiotiques qui sont généralement les plus utilisés en médecine humaine et vétérinaire.

Les résultats attendus pourraient, nous orienté vers le choix des antibiotiques les plus efficace, de plus cette l'étude pourra contribuer à évaluer le risque de l'apparition des souches multi- résistante dans les produits alimentaires d'origine animale.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Généralités

I- Les Entérobactéries :**I-1. Définition :**

Les Entérobactéries ou enterobacteriaceae est une famille de bactéries comportant de nombreux genres subdivisés eux même en espèce (Le Minor et al . ,1989). La famille des Entérobactéries est la plus importante famille de la section 05 selon Bergey's manuel. Cette famille présente un intérêt médicale, scientifique, économique et écologique environ 60% des bactéries isolées et identifiées dans les laboratoires d'analyse médicales appartiennent à cette famille (Eyquem et al . ,1998).

I-2. Caractères bactériologiques et morphologiques :

Selon Brener (1992) la famille comprendrait actuellement 29 genres (Leclere et al . ,1995). Qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs (Avril et al . ,1992).

- Ce sont des bacilles à Gram négatif.
- Mobiles par ciliature peritriche ou immobile (*Yersinia*).
- Aérobie-anaérobie facultatives.
- Poussent rapidement en milieux ordinaires.
- Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
- Ne possède pas d'oxydase.
- Réduisant les nitrates en nitrites (Neidhard et al . ,1994).

I-3. Classification :

La famille des Entérobacteriaceae se subdivise en cinq tribus :

- Eschirichiae : *Eschérichia*, *Shigella*...
- Klebseillae : *Klebseilla*, *Entérobacter*, *Hafnia* et *Serratia*...
- Salmonellae : *Salmonella*, *Citrobacter*, *Erwinia*...
- Proteae : *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*...
- Yersiniae : *Yersinia*, *Edwardsiella*... (Jack et al . ,1995).

I-4. Habitat :

Les Entérobacteriaceae sont trouvés dans l'environnement, d'autre chez les végétaux (Avril et al . ,1992) et la plus part des espèces sont des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux (Eyquem et al . ,1998).

I-5- Caractères cultureux :

Les Entérobacteriaceae se développent bien sur bouillon ou sur milieu ordinaire incubés pendant 18 à 24 heures à 37°C. Ces bactéries peuvent donner les formes suivantes :

- Les formes S (smooth) : les colonies sont lisses, bombées, brillantes et humides, elles ont 2 à 4mm de diamètre, le bouillon est trouble de façon homogène.
- Les formes R (rough) : les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate, elle s'observent surtout avec des souches ayant subi plusieurs repiquages, les formes R donnent un aspect grumeleux.
- Les colonies muqueuses sont habituelles avec les : *Klebsiella*, leur diamètre peut dépasser 10mm ; elles ont une tendance à la confluence.
- Les colonies nains s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leur chaîne métabolique, elles ne sont pas exceptionnelles chez les *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires (Brehon et al . , 2000, Ferron . ,1976)
-

II-*Escherichia coli*:**II-1. Historique:**

Escherichia coli est une bactérie appartenant à la famille des Entérobactéries, isolée pour la première fois par Théodore von Eschrich en 1885 (Larpent et al . ,1985). *E.coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique, cette bactérie est connue depuis long temps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire, au cours des dernières décennies. Le rôle de certaines catégories de *E.coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précise et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysé (Avril et al . ,1992).

II-2. Définition :

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule l'*Escherichia coli*. La presque totalité des souches d'*Escherichia coli* ne sont pas pathogène puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères (Rice 1999). Par ailleurs, parmi les coliformes fécaux l'*Escherichia coli* est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale (Edberg et al. ,2000).

II-3-Classification :

Selon Bergey's manuel:

Embranchement :	Schizomycetes.
Sous embranchement :	Eubactéria.
Classe :	Asporulales.
Ordre :	Bactériales.
Famille :	Entérobacteriaceae.
Genre :	<i>Escherichia</i> .
Espèce :	<i>coli</i>

II-4-Habitat naturel d' *Escherichia coli* :

Les *Escherichia coli* sont des hôtes normaux du tube digestif et surtout de la partie distale de l'iléon du colon de l'homme et du plus part des animaux à sang chaud. Elles les colonisent dans les premières heures après la naissance dans l'intestin (Le Minor et al . ,1989). *Escherichia coli* est quantitativement la plus important, présente à raison de 10^7 à 10^9 corps bactériens par gramme de selles, cette population bactérienne ne représente qu'environ 1‰ de celle des anaérobies (Avril et al., 1992). La présence d'*Escherichia coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale (Avril 1991). *Escherichia coli* est un germe que l'on rencontre dans l'eau contaminée (eaux usées) (Avril et al . ,1992).

II-5. Caractères morphologiques et culturaux :

Escherichia coli est un bacille Gram négatif, le plus souvent mobile, sa taille est de 1-1,5.2-6µm (Avril et al . ,1992, Eyquem . et al.,1998).Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosé en donnant des colonies rondes,lisses à bords réguliers de 2 à 3mm de diamètre et non pigmentées. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques (Avril et al ., 1992, Berche et al ., 1981).

II-6-Caractères biochimiques :

En plus des caractères généraux des Entérobactéries, *Escherichia coli* possède des caractères spécifiques suivantes :(Tableau n°1) (Eyquen et al., 1998, Larpent et al., 1985).

Tableau n° 1 : Les caractères biochimiques d'*E.coli* :

teste	Gaz	Lac	ONPG	H ₂ s	Man	Cit	Urée	Ind	LDC	ODC	RM	VP	Mob
<i>E.coli</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	d	d	+	-	+/-

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

d : Variable

II-7-Caractères antigéniques :

La structure antigénique de *Escherichia coli* est caractérisé par la présence de l'antigène O : somatique, l'antigène H : flagellaire et l'antigène K : capsulaire. (Sutra et al., 1988).

- Antigène O : somatique lipopolysaccharidique, il existe environ 160 antigènes O différents. Au moyen d'immunosérums spécifiques, il existe possible de classer serologiquement, les souches de l'*E.coli* dans les groupes O, les antigènes O sont thermostables,ne sont pas détruit par l'alcool ,mais le sont par le formol(Avril et al., 1992).
- Antigène H : généralement peu abondant de nature protéique thermolabile et détruit par l'alcool mais pas par le formol, on a individualise 49 antigène H différents qui agglutinent les germes qui les possèdent (Moustradier ., 1972).
- Antigène K : ils recouvrent les antigènes O, masquent et rendent les germes correspondant inagglutinables par les sérum antigènes (Fasquelle 1974)

II-8-Milieux de culture pour *E. coli* :

- ❖ Milieu d'isolement : différents milieux d'isolement sont utilisés pour la culture des colibacilles (*Escherichia coli*). Ils contiennent le plus souvent du lactose avec un indicateur coloré permettant de repérer les colonies lactose (+), aussi que divers substances inhibant la prolifération de cocci, de bacilles Gram positifs et de certains champignons.
- ❖ Milieux d'identification : l'identification des colonies est effectuée suivant les méthodes d'étude des caractères biochimiques des Entérobactéries (Le Minor et al., 1989).

II-9-Pouvoir pathogène :

L'espèce *Escherichia Coli* est subdivisée en de nombreuses souches pathogènes pour l'homme et les animaux. En effet, elles peuvent être à l'origine infection urinaire, intestinale, septicémique et génital

• Infection urinaire :

Escherichia coli est la bactérie le plus souvent en cause les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses ou hautes.

L'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièreté de l'urètre. La gravité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires, elle peut se compliquer de prostatite.

Escherichia coli est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales (Jack et al., 1995).

• Infection intestinale

Escherichia coli peut être responsable de gastro entérites comme des diarrhées d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme, chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement à un état de déshydratation. Dans

certaines cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique (Nauciel., 2000).

Les souches incriminées sont :

- Enterotoxinogènes (ETEC).
- Enteroinvasives (EIEC).
- Enterohémorragiques (EHEC).
- Entéropathogènes, ou Entéropathogénic (EPEC) (Aviril ., 1991).

• **Les infections sanguines (septicémies) :**

Le sang est physiologiquement stérile et un mauvais milieu de culture pour les bactéries. Se qui définit comme un passage occasionnel de germes, peu abondant dans la circulation sanguine.

Une septicémie est une infection générale, conditionnée par décharge bactériennes massives et répétées dans le sang (Nauciel 2000).

E.coli est le germe le plus souvent cause des septicémies surtout chez les nourrissons, la plupart ces souches possèdent un antigène polysaccharidique de type K₁ (Brehon et al., 2000)

• **Les infections génitales :**

Les infections génitales sont des infections qui n'atteignent que les organes génitaux, provoquées fréquemment par un déséquilibre de la flore commensale (Nauciel ., 2000).

Les infections peuvent se présentés sous des spectes chimiques différents et selon le sexe on distingue :

- chez l'homme : les sécrétions génitales des urétrites et des infections régionales telles les orchites, les épидидymites et les prostatites.
- chez la femme : les sécrétions génitales ou leucorrhées des vulvo-vaginites.
- chez les sexes : les ulcérations génitales (Ferron ., 1994).

Les intoxications alimentaires :

Les toxi-infections alimentaires sont caractérisées par une multiplication des micro-organismes chez le malade accompagnée de production des toxines. (Joffin et al ., 1993).

II-10. Les facteurs de pathogénicité :

- **La capsule :** Elle est de nature polysaccharidique, ou en connaît 80 variétés immunologiques différents (antigène K).La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément (Nauciel 2000).
- **Les adhésines :** ce sont des structures filamenteuses (appelées pili ou fimbriae) de nature protéique, qui entourent les corps bactériens à la manière, d'une fourrure, elles peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales (Avril et al ., 1992, Nauciel., 2000).
- **Les toxines :** certaines souches peuvent produire une hémolysine α est mise en évidence lors de la culture sur gélose ou sang (Berche ., 1981).
 - Les endotoxines communes aux Entérobactéries (Anonyme., 2002).
 - Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles), ce sont des toxines cytatoniques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de sections hydroélectrolytique (Eyquem et al .,1998 ,Berche et al.,1981).
 - Les cytotoxines : SLTI (shigo-liketoxine I) et SLTII (shigo-liketoxine II) ou encore vero toxines pour leurs effets toxiques sur les cellules vero (Lall et al ., 1999, Neidhardt et al., 1994).

Elles altèrent l'intégrité des entérocytes (Lall et al. ,1999).

- **Les protéines de la membrane externe et les LPS :**

Elles donnent aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément (Berche et al ., 1981, Neidhardt et al ., 1994).

CHAPITRE II
les Antibiotiques
et Notion d'antibiorésistance

I-Antibiotiques :**I-1-Historique :**

L'idée d'utiliser des produits antimicrobiens en thérapeutique, a commencé depuis 1877, par les chercheurs Pasteur et Joubert. En 1904, le médecin Almond Paul EHRLICH, observa que le rouge de tryptane pouvait être utilisé comme agent thérapeutique, plus tard, le même chercheur a testé des dérivés arsenicaux, il découvrit avec un jeune scientifique japonais, que l'arsphénamine était active contre la spirochète de la syphilis. En 1927, Gerhard DOMAGD découvrit que le rouge protosil protégeait totalement les souris contre les Streptocoques et les Staphylocoques pathogènes, il a reçu le prix Nobel pour sa découverte en 1928. L'âge d'or des antibiotiques commença avec la découverte de la Pénicilline, par le médecin écossais ALEXANDRE FLEMING en 1928 (Hardman., 1996).

I-2. Définition :

Les antibiotiques sont des substances produites par des espèces variées de microorganismes (bactéries, levure et actinomycètes), possédant une activité antimicrobienne à faible concentration, qui suppriment la croissance d'autres microorganismes et peuvent éventuellement les détruire sans affecter l'hôte (Hardman., 1996, Prescott et al., 1996).

I-3. Origine des antibiotiques :**I-3-1. Origine naturelle :**

Ces antibiotiques sont naturellement synthétisés dont 70 % proviennent des actinomycètes, 20 % proviennent des champignons, et le reste sont synthétisés par des bactéries particulièrement le genre : Bacillus.

I-3-2-Origine synthétique :

Certains antibiotiques sont d'origine synthétique, tels que les sulfamides et les quinolones, qui ne sont pas des produits d'origines microbiennes. (Hardman 1996, Duval et al., 1990, Jhon vanmarck., 1996, Prescott et al., 1996).

I-4-Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : leurs origines, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action. Mais actuellement c'est la

Classification chimique qu'est la plus courante, cette dernière permet de différencier plusieurs familles d'antibiotiques :

I-4-1. Les Bêta lactamines :

Le noyau de base est le cycle β - lactame, les antibiotiques de cette famille sont bactéricides, il se répartissent en 3 groupes :

- ❖ **Groupe I :** il comporte le cycle β -lactame et un cycle thiazoline (ex : spectre étroits pénicilline M et pénicilline V).
- ❖ **Groupe II :** il comporte un cycle β -lactame et un cycle dihydrothiazine (ex : spectres larges pénicilline A)
- ❖ **Groupe III :** il comporte un noyau limité au cycle β -lactame (ex : céphalosporine, etc.).

En plus de ces trois groupes, il existe des inhibiteurs de β -lactamases tels que augmentin composé d'amoxicilline et d'acide clavulamique et qui agit sur les bactéries productrices de pénicilline. Les β -lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du péptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (Yala et al ., 2000).

I-4-2. Les Aminosides :

Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Ce sont des antibiotiques rapidement bactéricides. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques, elles sont classées par UMEZAWA en 1979 puis par BRYSKIER en 1995 en fonction de la structure chimique centrale en trois classes :

- *Streptomycine.
- *2 désoxystreptamine.
- *Streptidine.

L'action des aminosides se résume en une perturbation de la synthèse des protéines au niveau de la fonction 30 S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides. Le spectre d'action des aminosides est large, agissant sur les bacilles gram négative aérobies notamment les entérobactéries (Yala et al., 2000).

I-4-3. Phénicoles :

-Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique à large spectre. En Algérie, il est réservé au traitement de la fièvre typhoïde.

-Le thiamphénicol est très voisin chimiquement du chloramphénicol, son spectre d'action est similaire. Les deux molécules sont bactériostatiques, elles agissent au niveau de la sous unités 50s du ribosome, ceci à pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines.

Les phénicoles étant de petites molécules hydrophiles, traversent facilement la membrane externe et interne des bactéries à gram négatif.

Ainsi le spectre d'action est très large englobant les bacilles à gram positif, les bacilles à gram négatif, les cocci à gram positif et les cocci à gram négatif.

En Algérie, ces molécules sont réservées aux traitements des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et dans certains cas de méningites purulentes à hemophilus et stréptococcus.

Pneumonie lorsque des molécules moins toxiques ne sont pas disponibles (Yala et al., 2000).

I-4-4-Les tétracyclines :

Les tétracyclines sont Bactériostatiques, elles pénètrent bien dans les cellules, ces molécules présentent une grande homogénéité, on distingue les cyclines naturelles et les cyclines semi synthétiques.

***Cyclines naturelles :**

-Chlorotétracycline (auréomycine).

-Tétracycline base (tetracyne).

***Cycline semi synthétiques :**

- Oxytetracycline (terramycine).
- Doxycycline (vibramycine).
- Minocycline (mynocine).

La Doxycycline et la Minocycline ont une meilleure activité *in vitro* et sont activés sur les souches bactériennes résistantes aux cyclines naturelles. Elles ont, le plus, une meilleure absorption et une plus longue durée d'action. Les tétracyclines inhibent la synthèses des protéines au niveau de la sous unité 30s du ribosome (Yala et al ., 2000).

I-4-5. Les polypeptides :

Comprend des molécules possédant une structure cyclique à base d'acides amines, regroupe :

- Colistine.
- Bacitracine.
- Polymyscine (Eberlin .,1994).

Ces molécules n'agissent que sur les bactéries à gram positif en inhibant la synthèse du péptidoglycane donc de la croissance bactérienne (Yala et al ., 2000).. Ces molécules ont un spectre d'activité étroit réservé aux bactéries à gram positif et sont d'usage exclusivement hospitalier. Elles sont inactives sur les bactéries à gram négatif à cause de leur masse (Duval.J., Sonssy .C.J., 1990).

I-4-6. Les Macrolides :

Les macrolides sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi.

Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaire.Ils ont une excellente pénétration tissulaire. Les macrolides possèdent un noyau lactone centrale qui est à base de leur classification, selon le nombre d'action de carbone.Ce sont des molécules lipophiles. Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bacterienne.Ils se fixent sur unité 50s du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse.Ils sont bactériostatiques (Yala et al .,2000).

I-4-7. Les quinolones :

Les quinolones forment une famille d'agents bactéricides synthétiques. Ils inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe « ADN-ADNgyrase » en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien. (Yala et al., 2000). Ils comprennent : l'acide nalidixique, acide piperidique. (Eberlin., 1994).

I-4-8-Les sulfamides :***Structure :**

Ils se constituent d'un noyau paraminobenzène sulfonamide avec un radical R déterminant leur pharmacocinétique et leur classification pratique selon leur durée d'action et l'on leur site d'action. Ils ont une activité bactériostatique, ils entrent en compétition avec le PAB bloquant aussi l'action de la synthétase (Yala et al., 2000).

I-4-9. Les Rifamycines :

Les rifamycines sont constitués d'un macrocycle et d'un cycle aromatique. Les rifamycines agissent en bloquant la transcription par inhibition de l'ADN polymérase, les rifamycines SV et la rifampicine sont bactéricides. En Algérie, la rifampicine est réservée au traitement de la tuberculose (Yala et al., 2000).

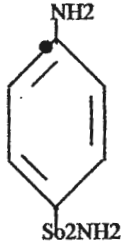
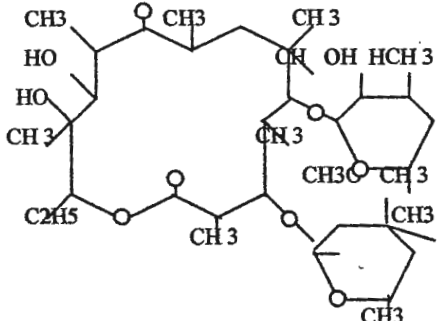
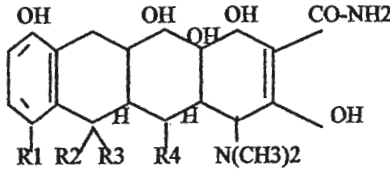
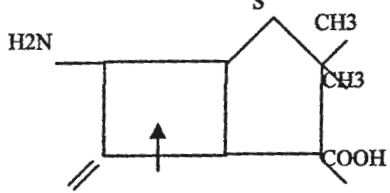
I-4-10- Les Nitro-imidazoles :

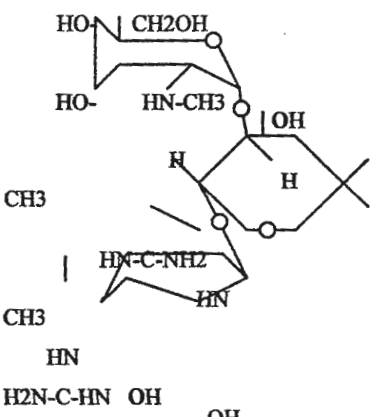
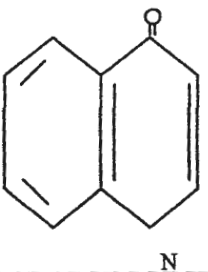
S'agissant d'avantages d'« antibiomiétiques », nous ne traiterons ici que de deux molécules. Le nitro-imidazole et l'ordinazole, ces deux produits ont un anaérobie, dont bactéroïdes et *Clostridium* (Gazengel., 2007).

I-4-11- Glucopéptides :

Deux molécules sont actuellement disponibles : la vancomycine et la teicoplanine, il s'agit de deux grosses molécules agissant par blocage de la synthèse de la paroi bactérienne au niveau du mucopeptide, en inhibant la transglycolisation. Elles altèrent également la membrane cytoplasmique, leur spectre est identique : bactéries Gram (+), Corynébactéries, *Listéria* et certaines souches anaérobies : *Clostridium*, bactéroïdes (Gazengel., 2007)

Tableau n° : 2 : Résumé de la classification des antibiotiques (Houichon ., 2000) :

Les familles	Représentation schématique	Les groupes	Site d'action	Mode d'action
Antifolates		-sulfamide -triméthoprime	Matériel nucléaire	
phénicoles		-chloramphénicol -thianphénicol	Fraction 50S	Bactériostatiques
Macrolides	$R_1 \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{CHOH} \text{---} \text{CH} \text{---} \text{CH}_2 \text{---} \text{O} \text{---} R_2$ $\text{NH} \text{---} \text{CO} \text{---} \text{CH} \text{---} \text{Cl}_2$	-Erythrimycine -Linkomicine -spiramicine -pristinamycine -virginiamycine	Fraction 50S	
Cycline		-Tétracycline	ARN/ribosomes	
Beta lactamine	 <p>B- lactame</p>	* pénicilline -ampicilline - amoxiciline - oxaciline - ticarciline * céphalosporine - céfaloridine - céfalotine -céfazoline -céfotaxine	Paroi	Bactéricide

Aminoside		<ul style="list-style-type: none"> -streptomycine -Gentamicine -Tobramicine -Anikacine -kanamicine 	Fraction 30S	Bactéricide
Rifampicine	-	Rifampicine	Matériel nucléique	
Polypeptide	-		Membrane s	
Quinolone		<ul style="list-style-type: none"> -Acide nalidixique - Pefloxacine 	ADN	
Divers	-	<ul style="list-style-type: none"> Nitroxoline Fosfomycine 		
		<ul style="list-style-type: none"> Novobiocine 	Matériel nucléique	
		<ul style="list-style-type: none"> -Vancomycine - Furane 	Paroi	

II-Notion d'antibiorésistance :

II-Définition :

Un antibiotique exerce une activité antibactérienne sur divers espèces plus ou moins nombreuses .Plus le nombre des bactéries sur les quelles agira l'antibiotique sera grand, plus large sera son spectre d'action et inversement les espèces bactériennes insensibles en dehors du antibiotique, est la capacité que possède un agent infectieux de s'opposer à l'action de celui-ci (Hardman 1996, Kessal 1986, Kessal 1993).

II-2-mécanisme de résistance :

On distingue parmi les bactéries résistances aux antibiotiques : celles qui présentent une résistance naturelle, et celles dont certaines souches ont développées une résistance dite acquise, due à l'emploi massif des antibiotiques. (Courvalin –patrice ., 1997). Les mécanismes de résistances sont :

- Modification de la pénétration de l'antibiotique par la modification des porines impliquées dans sa pénétration.
- Modification de la molécule qui constitue la cible de l'antibiotique, ce qui le rend inefficace.
- Production d'une enzyme capable de l'inactiver (Kessal 1986).

II-2-1. La Résistance naturelle :

Elle définit le spectre d'activité de l'antibiotique :

Les antibiotiques à large spectre d'action agissent à la fois sur les bactéries gram positif et gram négatif, les bactéries à spectres étroits agissent sélectivement sur les bactéries à gram positif ou gram négatif.

II-2-2. Résistance acquise :

La résistance aux apparaît à la suite d'un mécanisme de mutation chromosomique ou extra chromosomique (sur un plasmide) .Dans le premier cas ,c'est le chromosome de la bactérie qui acquiert un gène de résistance aux antibiotique ,ce type de mutation est assez rare,mais généralement stable ,et est transmis à la totalité de la descendance de la bactérie.Dans le second cas,là résistance est due à l'acquisition d'un plasmide portant un gène de résistance ,par le phénomène de conjugaison bactérienne ,cè type de résistance

qui concerne tous les types d'antibiotiques ,et de plus en plus répondu .Une espèce bactérienne peut acquérir plusieurs plasmides portant chacun un gène de résistance à un antibiotique différent ;quand ces plasmides fusionnent ,la totalité des gènes est transmises à une autre bactérie au cours d'un phénomène de conjugaison (Courvalin .patrice ., 1997 ,Kessal 1986).

CHAPITRE III

Antibiogramme et CMI



I-L'antibiogramme :

I-1-Définition :

L'antibiogramme est une étape importante pendant une étude bactériologique. C'est une technique analytique utilisée en laboratoire pour déterminer la sensibilité d'une bactérie donnée en vers les antibiotiques et savoir l'action de l'antibiotique le plus actif.

I-2-Technique de diffusion sur gélose :

Elle consiste à utiliser des boîtes de pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques préalablement imprégnés des quantités connues d'antibiotiques, sont alors en surface de la gélose.

Durant la période d'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose à partir des disques, selon un gradient de concentrations jusqu'à une limite de distance où sa concentration est la plus faible. Après incubation, on constate dans la boîte un développement bactérien normal dans la gélose. Sauf autour des disques d'antibiotiques qui ont une action inhibitrice.

Autour de ces disques, on observe une zone d'inhibition exempte de développement microbien, avec un diamètre proportionnel à la concentration et à l'efficacité de ce type de test est couramment utilisé dans la détermination de la sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques (Burnicho et al.2003)

II- La concentration minimale inhibitrice CMI :

II-1 définition :

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Elle correspond à la croissance minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24 heures. La CMI explore donc l'effet bactériostatique seulement ce qui n'est pas limitatif sachant qu'en bactériologie clinique (Burnicho et al.2003)

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Bousseboua 2002.)

II-2- Technique :

Les méthodes sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tube (méthode de macro dilution) ou de cupules (méthode micro dilution) contenant l'antibiotique.

Après incubation, la CMI est indiqués par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boite.

La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches à étudiées. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique.

La méthode de dilution en milieu gélosé, réalisé avec une gamme de concentration en progression géométrique de raison 2 et la méthode de référence (Burnicho et al.2003).

III- la concentration minimale bactéricide (CMB)**III-1. Définition**

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'un antibiotique capable de tuer une proportion donné des bactéries (en générale : <0,01 % de survivants) (Burnichon et al., 2003).

La détermination de la CMB s'effectue par une méthode de dilution (essentiellement en milieu liquide) (Berche et al., 1981).

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériels et Méthodes

I- Matériels et Méthodes :

I-1. Matériels :

➤ **Appareillages :**

- Les boites de pétri.
- Les tubes a essais.
- Les lames.
- Bec benzen.
- L'anse de platine.
- Les pipettes pasteurs. (Marque : G/W : 5KGN/W : 4KG, N°=19000230C)
- Les micropipettes (10-100µl, 1000µl). (Marque : biohit proline, N°=32525).
- Bain marie. (Marque: Gerhard Born, type SV24)
- L'étuve. (Marque : memmert, type INB 500).
- Le microscope optique (marque : olympus ptical, N°=7G11822).
- Four pasteur (marque : Furnace, model N°=F601033).
- Autoclave (marque : SVI montpllier, modèle : A4*130 E).
- compteur colonie (marque : CE, modèle N°=50971, SN : 001100686).

➤ **Milieus utilisés :**

- Bouillon nutritif.
- Gélose nutritive.
- Gélose héktoen.
- Milieu Muller Hinton.
- Eau physiologique.

➤ **Les réactifs utilisés :**

- Violet de gentiane.
- Lugol.
- L'alcool.
- Fushine.
- Huile à immersion.

➤ **Matériels biologiques :**

-**Les souches bactériennes :** les 28 souches d'*Eschérichia coli* sont fournies par le laboratoire de phytopharmacologie.

L'identification de ces souches est résumée dans le tableau suivant :

Tableau n° 3 : Marquage des souches d'*Eschérichia coli* fournies par le Laboratoire de phytopharmacologie.

N° : souches	de	Marquage
1		Lac+29
2		E ₆ Lac+
3		L+ch : S
4		L (+) 07
5		Lac+61.C.E
6		3Lac+
7		Lac+19
8		Lac+6
9		113/36/L+
10		Lac+ch : S 2FRE
11		Lac+ch : S : 3
12		Lac+ch : S : 44
13		Lac+ch : R : 31
14		Lac+38 //8
15		Lac+ (-32)
16		Lac+ch : R : 38
17		30Lac+
18		Lac+ch : R : 29
19		Lac+21
20		E ₂ L+

21	Lac+33
22	Lac (+) 19
23	Lac (+) 07/15
24	5Lac+
25	40 Lac+114
26	250L+
27	Lac+10
28	Lac+ch : S : 26

Lac +, L+ : lactose positif

-Les disques d'antibiotiques :

Tableau n°4 :Liste des disques d'antibiotiques.

Familles	Antibiotiques	codes	Les charges
B-lactamines	Amoxicilline	AMX	25µg/ml
	Ampicilline	AM	10µg/ml
Tétracycline	Tétracycline	TE	30µg/ml
Phénécoles	chloramphénicol	C	30µg/ml
Aminosides	Streptomycine	S	10µg/ml
Polypeptides	Colistine	CS	50µg/ml
Antifolates	Sulfamide	SSS	200µg/ml

Tableau n°5 : Les antibiotiques pour détermination de CMI

Familles	Antibiotiques	codes	N° : de lot
B-lactamines	Amoxicilline	AMX	332 /5
	Ampicilline	AM	864/E ₁
Aminosides	Streptomycine	S	-
Phénicoles	Thiamphénécol	T	1619/1129

I-2. Méthodes.

I-2-1. L'origine des souches :

Les souches d' *Eschérichia coli* qui ont été utilisées sont fournies par le laboratoire de phytopharmacologie et qui ont été isolées à partir des produits carnés d'origine aviaire.

I-2-2. Choix des souches :

Parmi les souches fournies, on a choisi d'une manière aléatoire 28 souches identifiées comme étant *Eschérichia coli* .Les souches sont conservées sur gélose nutritive incliné.

I-2-3. Isolement des souches :

A partir de chaque tube contenant la gélose nutritive inclinéensemencé, nous avons effectués des isolement dans des boites contenant la gélose héktoen que nous avons préparés préalablement, chaque boite de gélose héktoen est divisés en trois quartiers et chaque quartier recevra une seule souche.

Cet étape de l'isolement nous permettons de vérifier la viabilité des souches, leurs appartenance la famille des Entérobactéries et leurs pouvoir de dégrader le lactose.

Incubation : Toutes les boites ensemencés sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

I-2-4. Purification des souches :

A partir de chaque quartier des milieux d'isolement, on prélève une colonie bien isolée et on l'ensemence sur gélose hektoen par la méthode d'isolement par épuisement en stries et qui décrite par (Carbonnelle et al., 1992)

Par cette méthode, nous avons préparé, isolées et purifiées 28 souches d'*Eschérichia coli*.

I-2-5-identification des souches :

L'identification repose sur un ensemble de moyen et de critères décrite par (Carbonnelle et al., 1992) Ceux que nous avons utilisés sont les examens morphologiques, macroscopiques et microscopiques des colonies et La détermination des caractères biochimiques.

I-2-5-1-Examen macroscopique:***But :**

L'examen macroscopique permet la reconnaissance des critères morphologiques d'*E-coli*.

***Principe :**

L'examen macroscopique est basé sur l'observation de l'aspect des cultures en milieu solide (Taille, couleur, forme, et texture).

***Technique :**

On prend une boîte de pétri contient le milieu hektoen ensemencé et oriente vers la lumière. Puis observé par l'œil nu les colonies.

***Lecture :**

les souches qui se présentent sur l'hektoen sous forme de petites ou moyennes colonies, rugueuses ou lisses avec une coloration rouge brique avec ou sans centre noire (H₂S-/+).

I-2-5-2. Examen microscopique : Coloration de Gram :***But :**

La coloration de gram permet de diviser les bactéries en deux groupes : G (-) .et G (+) et voir même la morphologie et le mode de regroupement.

***Principe :**

La coloration de gram est basée sur la différence de structure de la paroi chez les deux groupes. Forte proportion de lipides chez les gram (-) et faible teneur chez les gram (+).

Les gram (+) sont moins sensibles à l'action de l'éthanol qui ne provoque pas leur décoloration, elle gardent la coloration initiale violette, par contre l'éthanol solubilise les lipides de la paroi de gram (-) qui sont perdus la couleur violette et absorbe la fuschine qui les recoloré en rose (Farouk.et al., 2003).

***Techniques :**

Pour obtenir un étalement correcte il est d'abord indispensable d'utiliser des lames propres et dégraissés par trempage à l'alcool suivi un rinçage à l'eau distillée, et bien séchés.

-avec l'anse de platine ou avec une pipette pasteur fine, prélève une goutte d'eau distillée, la déposer sur la lame puis ajouter la colonie bactérienne.

-Recouvrir la lame par la solution de violet de gentiane et laisser agir pendant une minute, puis rincer à l'eau courante.

Fixer le violet de gentiane avec lugol puis décolorer l'étalement par l'alcool et laver à l'eau courante.

-Recolorer par la solution de fuschine et laisser agir une minute et après rinçage sécher le frottis au papier et examiner à l'objectif (x100) (Lambin et German 1969).

***Lecture :**

-les bactéries à gram positif sont colorées en violet.

-les bactéries à gram négatif sont colorées en rose.

1-2-6-Recherche de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu solide (autibiogramme) selon les recommandation de AFNOR 2000 et Modifiée:

***But :**

L'antibiogramme est un test bactériologique qui permet de déterminer la sensibilité de la bactérie à un ou plusieurs antibiotiques, il permet aussi de guider la prescription et de surveiller les résistances acquises des bactéries aux antibiotique (Burnicho et al.2003).

***Principe :**

La technique utilisée est la méthode de diffusion en milieu gélosé qui consiste à ensemencer ce milieu par le germe à étudier et à déposer ensuite les disques d'antibiotiques il se produit une compétition entre deux phénomènes :

- la diffusion de l'antibiotique qui empêche la croissance de germe.
- la croissance de germe.

L'inhibition des micro-organismes est liée à la concentration minimale inhibitrice (CMI). De la bactérie, la vitesse de la croissance, le contenu de disques d'antibiotique et la vitesse de diffusion de l'antibiotiques (Burnicho et al.2003).

***Technique : (Lambin et German 1969).**

a. mise en culture :

Les souches sont cultivées dans des milieux assez riches en nutriments pour redémarrer leur croissance et leur capacité métabolique. Les souches *d'Eschérichia coli* ont été cultivées dans le bouillon nutritif.

b. Préparation du milieu de culture :

- Faire fondre la gélose « muller-hinton » dans un bain marie à 100°C, puis la refroidir à 45°C.
- On coule la gélose muller-hinton dans des boites de pétri et on laisse refroidir, les géloses sont séchées avant l'emploi.

c. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture fraîche sur bouillon nutritif de chaque souche fournie et identifier nous avons prélevé une ose bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile et nous avons déchargés dans 9ml d'eau physiologique stérile, qui est préalablement préparé dans des tubes à visse.

d. L'ensemencement par inondation :

Chaque boîte de gélose muller-hinton est ensemencée par la méthode d'inondation et cela en versant la totalité de 9ml d'inoculum sur la surface de gélose.

Après agitation nous avons prélevé l'excès de l'inoculum par aspiration à l'aide d'une pipette pasteur, la suspension bactérienne aspire est rejeté dans un contenant l'eau de javel et en fin la surface du gélose est séchée dans une étuve.

e. Application des disques d'antibiotiques :

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre, les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm centre à centre. Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application, une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacée. Puis faire l'incubation à 37°C pendant 24^h.

***. Lecture :**

-Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle, à l'extérieur de la boîte fermée. Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition. Figurant dans le tableau (annexe). Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

1-2-7-La concentration minimale inhibitrice (CMI) selon la méthode décrite par (Carbannelle et al. 1992.)***But :**

La détermination de la CMI permet d'apprécier l'efficacité des agents antibactériens *in vivo*. Son calcul repose sur des techniques standardisées selon des

normes internationales qui facilitent les comparaisons des profils de sensibilité des espèces bactériennes.

***Principe :**

La CMI est déterminée par l'utilisation d'une gamme de dilutions de l'agent antimicrobien, additionnées à une série de tubes d'un milieu solide, de composition convenable.

Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la CMI est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est à dire qu'aucune croissance observés dans le milieu.

***Technique :**

1^{ère} étape : Préparation des solutions mères :

-**SM I** : Dissoudre 1g d'antibiotique dans 1ml de diluant correspondant (l'eau distillé stérile).

-**SM₁** : A partir de la SM I on prend 200µl à l'aide d'une micropipette et on décharge dans un flacon contenant 100 ml d'eau distillé stérile. La concentration de cette solution est 2000µg/ml.

-**SM₂** : À l'aide d'une micropipette on prend 6,4 ml de la solution mère1 (SM₁) et on additionne à 3,6 ml d'eau distillé stérile. La concentration de cette solution est 1280µl/ml.

2^{ème} étape : réalisation des dilutions :

-**1^{ère} série** : Les 4 premiers tubes contenant un volume d'eau distillé stérile respectivement (2 ml, 3 ml, 3,5 ml, 7,5 ml). Chaque tube reçu un volume de la SM₂. Successivement (2 ml, 1 ml, 0,5 ml, 0,5 ml) et on avoir les concentrations suivantes (640µg/ml, 320µg/ml, 160µg/ml, 80µg/ml).

2^{ème} série : A partir de 4^{ème} tube de la 1^{ère} série on prend les volumes suivantes (2 ml, 1 ml, 0,5 ml, 0,5 ml) respectivement et on l'ajute dans les volumes suivantes de l'eau distillé (2 ml, 3 ml, 3,5 ml, 7,5 ml). On obtient les concentrations suivantes (40µg/ml, 20µg/ml, 10µg/ml).

3^{ème} série : À partir de dernier tube de la 2^{ème} série, on prend les volumes suivantes (2 ml, 1 ml). On l'ajoute à les volumes d'eau distillé suivantes (2 ml, 3 ml). On obtient les concentrations suivantes (2,5 µg/ml, 1,25 µg/ml).

***Distribution des dilutions :**

- Distribuer sous un même volume 2 ml de chaque dilution dans une série de 11 tubes contenant 18 ml de gélose muller-hinton fondue préalablement à 100°C et refroidi à 45°C.
- Le tube N° 11 de la série reste sans antibiotique et considéré comme un témoin.
- Bien homogénéiser le mélange des tubes.
- Couler le mélange dans des boîtes identifiées et laisser refroidir.
- On doit les sécher les boîtes 15 minutes à 37°C.
- Diviser chaque boîte en 16 parties.
- A partir d'une culture fraîche sur le bouillon nutritif, on prélève à l'aide d'une anse de platine un ose de la suspension bactérienne.
- Ensemencer chaque partie des boîtes par une ose de culture d'*Eschérichia coli*
- Les boîtes sont incubées 18 heures à 37°C.

L'ensemble de ces dilutions est résumé dans le tableau suivant :

Tableau n°6 : Résumé des volumes et des co- représentations des solutions mères et des dilutions : (Carbonnelle et al. 1992.)

Concentration initiale $\mu\text{g/ml}$	Concentration finale $\mu\text{g/ml}$	La SM et les dilutions	Volumes de ATB μl	Volume de l'eau distillée μl	Volume total μl	Concentration finale des tubes gélosés : 18ml $\mu\text{g/ml}$
10^6	2000	SM ₁	200	$100 \cdot 10^3$	-	-
2000	1280	SM ₂	$6,4 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^3$	-	-
2000	640	1/2	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	64
	320	1/4	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	32
	160	1/8	$0,5 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	16
	80	1/16	$0,5 \cdot 10^3$	$7,5 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	8
80	40	1/2	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	4
	20	1/4	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	2
	10	1/8	$0,5 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	1
	5	1/16	$0,5 \cdot 10^3$	$7,5 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	0,5
5	2,5	1/2	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	0,25
	1,25	1/4	$1 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	0,125

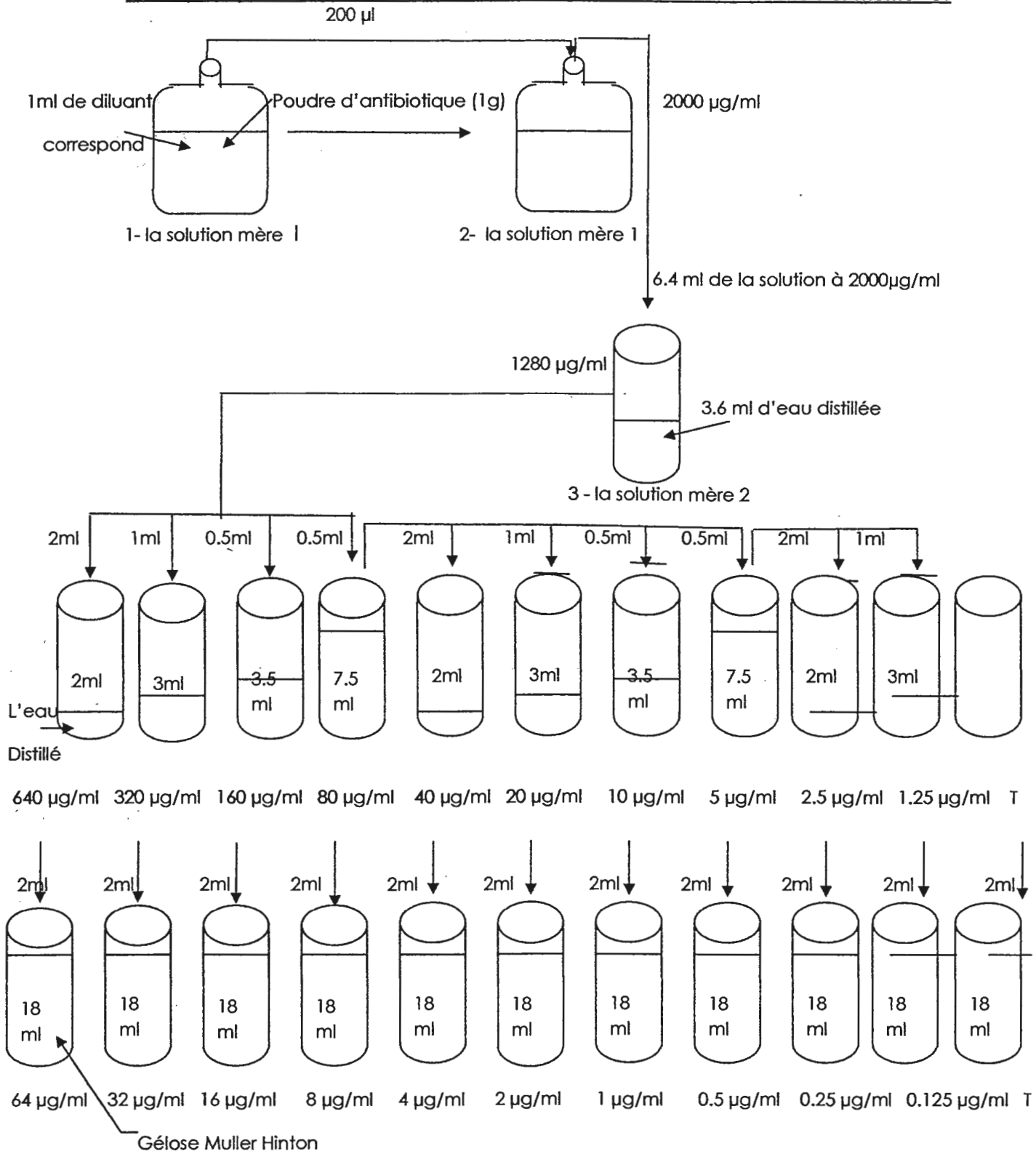


Figure n°1 : schéma de préparation de la solution mère et les dilutions

Tableau n°7 : Identification des souches qui en utiliser pour déterminer la concentration minimale inhibitrice

N. des souches	Identifications des souches
01	Lac +29
02	E6 lac +
03	Lac +19
04	Lac (+) 07
05	Lac + 61.C.E
06	3 Lac+
07	Lac+6
08	Lac+.ch.S :44
09	Lac+ ch.R :31
10	Lac+.ch : R : 38
11	30 Lac+
12	Lac+.ch. R : 29
13	Lac+ 21
14	Lac+33
15	Lac+.ch.S
16	Lac+ 07 (15)

CHAPITRE II

Résultats et discussion

I- Résultats et discussions :

La purification des souches sur le milieu héktoen a donnée des colonies de petite taille de couleur jaune, lactose positif (figure n° : 02)



Figure n°2 : Aspect des colonies sur gélose héktoen.

L'ensemble des souches a montré une morphologie coccobacillaire, Gram négative (couleur rose) isolées ou associées en pair, rarement en chaînette plus ou moins courte. (Figure n° : 03).

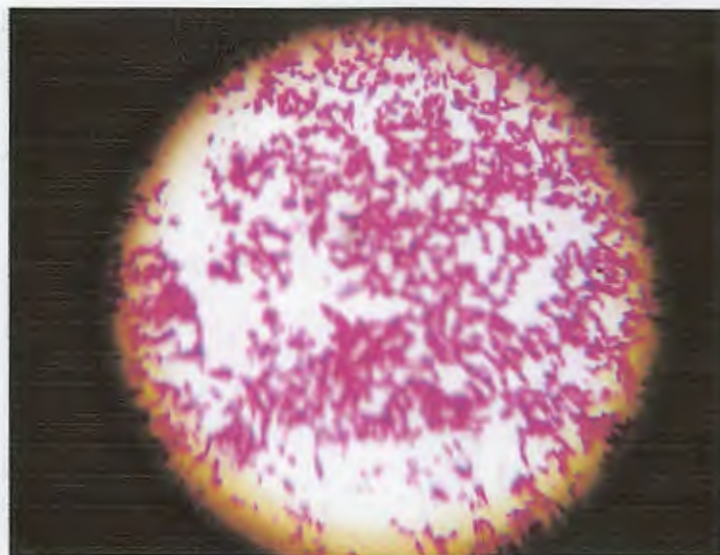


Figure n°3 : Résultat de coloration de Gram d'*E.coli*.

Résultats du test de l'antibiogramme :

Le test de sensibilité aux antibiotiques sur différentes souches *d'E.coli* par la méthode de diffusion sur gélose a révélé que 85,71% des souches sont résistants pour Tétracycline, Sulfonamide, Streptomycine et Chloramphénicol.

Les tests de sensibilité aux antibiotiques révèlent une forte résistance envers l'Amoxicilline (100%) et l'Ampicilline (96,15%) donc ce sont des antibiotiques inefficace .De plus, nous avons remarqué que les souches testées sont relativement sensibles à la Colistine (80,77%). (Figure n°03). (Tableau n°7)

Tableau n°8 : pourcentage et le nombre des souches d'E.coli résistantes et sensibles aux ATB :

Antibiotiques	% des souches résistantes	% des souches sensibles	Nombres des souches résistantes	Nombres des souches sensibles
Tétracycline	88,46%	11,53%	23	3
Amoxicilline	100%	0%	28	0
Colistine	19,23%	80,77%	5	21
Chloramphénicol	78,57%	21,41%	22	6
Sulfamide	96%	4%	24	1
Ampicilline	96,15%	3,84%	25	1
Streptomycine	75%	25%	3	1

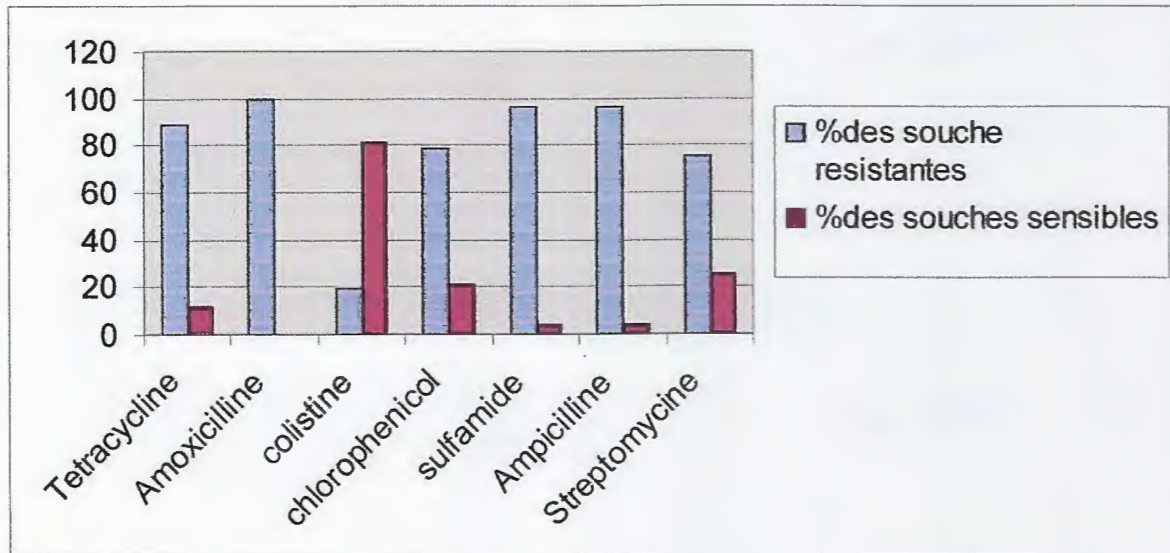
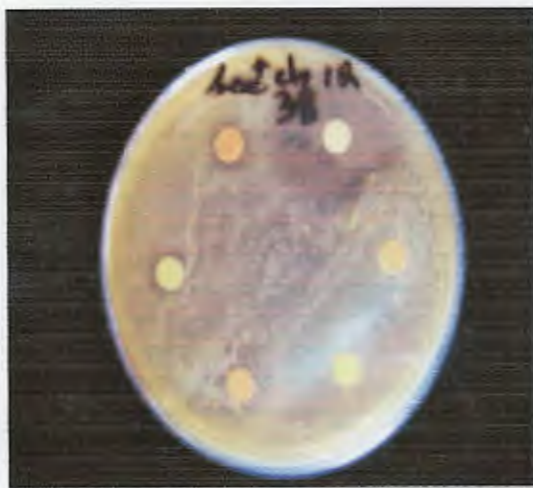


Figure n°3 : Histogramme représente l'activité anti-bactérienne (antibiogramme) de différentes antibiotiques en présence de différentes souches.



Lac +ch :R 38



E₂ L+

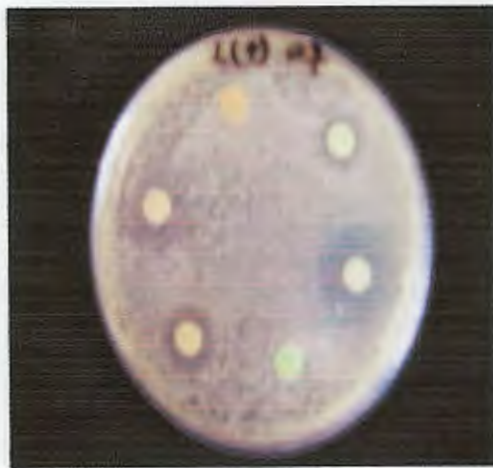




L+ ch .S



Lac +ch.R3



L (+) 07



40 L+ 114



Lac +6



lac +29



250 L +



L (+) 07 15



L (+) 29



Lac +38// 6



Lac+ch.R26



Lac +ch.S 44



Lac+ch :S 2FRE



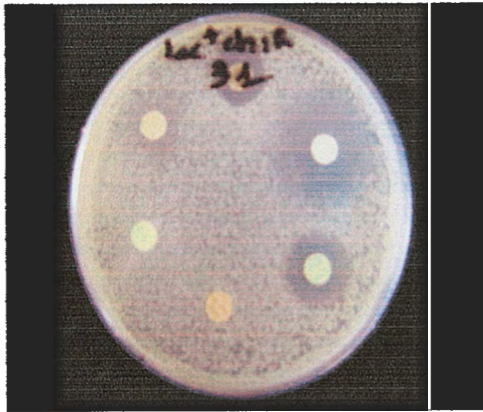
Lac+ 33



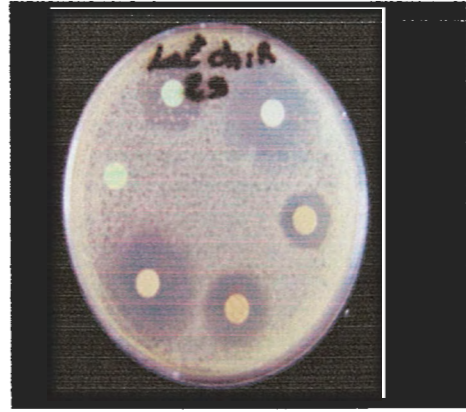
E₆ Lac +



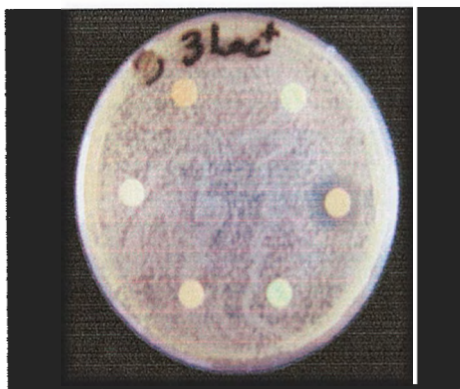
5 Lac+



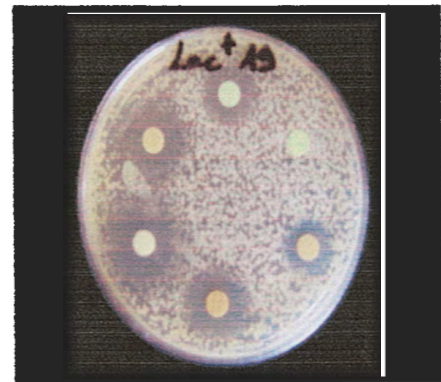
Lac+.ch.R 31



Lac.ch.R29



3Lac+



Lac+19

Figure n° 4 : Résultat de la méthode de diffusion sur gélose (antibiogramme)

Résultat et discussion du test de détermination des CMI :

Les résultats de détermination de la CMI des différentes souches vers les B-Lactamines:

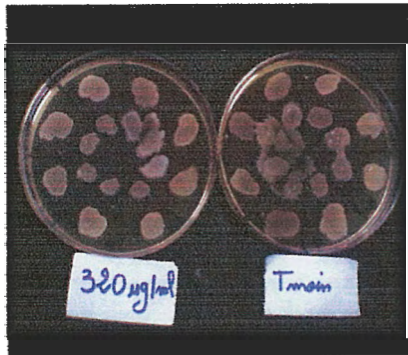
Les résultats de la CMI déterminées par la méthode de diffusion sur gélose montrent la résistances des différentes souches en vers l'ampicilline. En effet, les valeurs obtenues comprennent entre 4 μ g/ml et 64 μ g/ml et pour l'amoxicilline nous avons remarqué un développement bactérien même à la concentration de 64 μ g/ml.

Ces résultats sont en accord avec ceux qui George et al (2008) qui sont montrés que les souches d'E.coli peuvent avoir des CMI au β -lactamines qui inférieur à 90 μ g/ml.

De même, les travaux de LENOC et al en 1989, confirment ces résultats sur des souches d'E.coli isolées chez des malades hospitalisées pour des infections urinaires. Les résultats similaires ont retrouvées par Conlon en 1986, qui a montré que les espèces E.coli peuvent avoir des CMI au β -lactamines supérieur 128 μ g/ml pour l'amoxicilline.

Les valeurs de CMI retrouvés nous conduit de dire que les souches testées sont probablement productrices de β -lactamase.

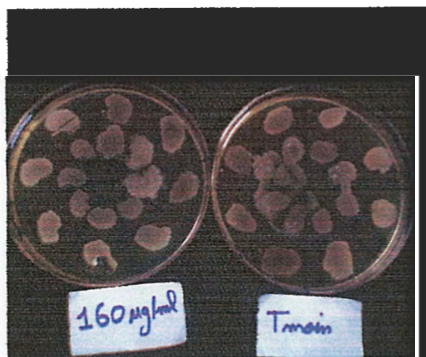
Amoxicilline :



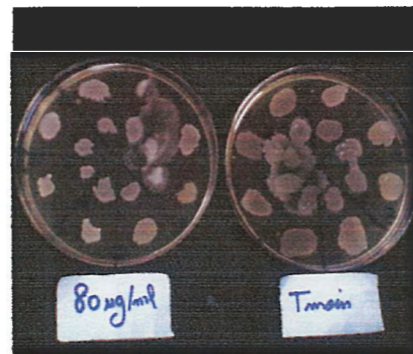
B



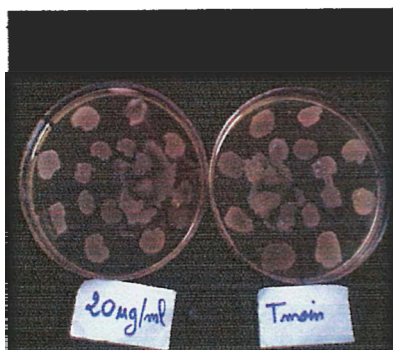
A



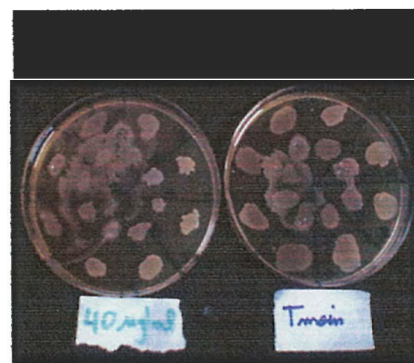
C



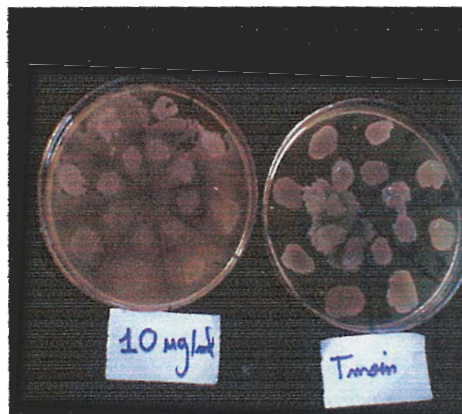
D



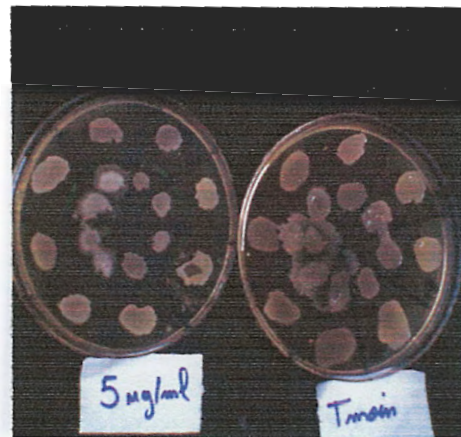
F



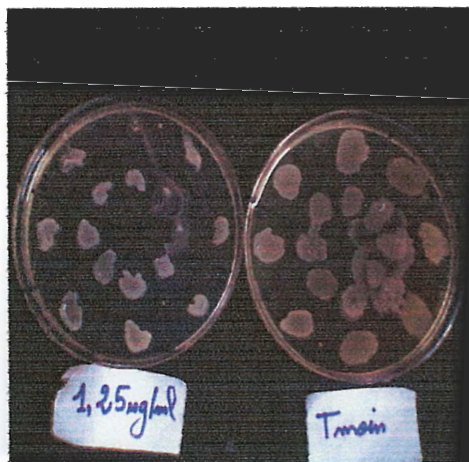
E



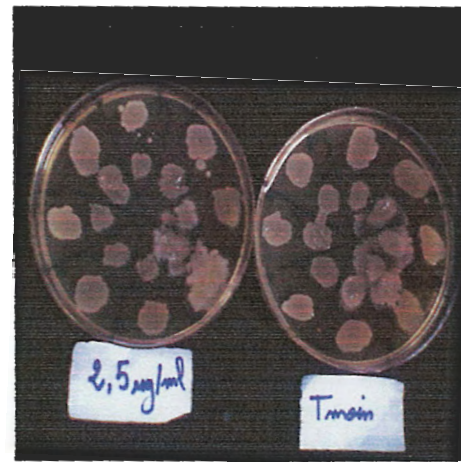
G



H



J



I

Figure n° 5 : Résultat de détermination de la CMI au l'amoxicilline

Figure n° 5 (A) : Gélose Muller hinton à [64 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (B) : Gélose Muller hinton à [32 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (C) : Gélose Muller hinton à [16 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (D) : Gélose Muller hinton à [8 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (E) : Gélose Muller hinton à [4 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (F) : Gélose Muller hinton à [2 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

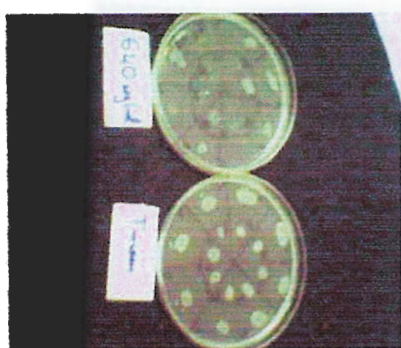
Figure n° 5 (G) : Gélose Muller hinton à [1 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (H) : Gélose Muller hinton à [0,5 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

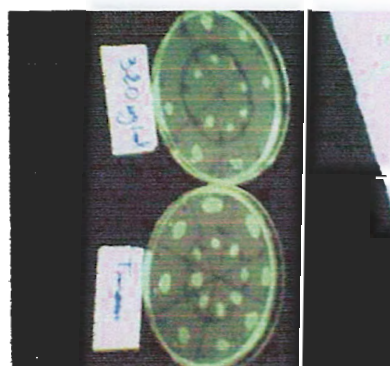
Figure n° 5 (I) : Gélose Muller hinton à [0,25 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 5 (J) : Gélose Muller hinton à [0,125 µg/ml] représente les souches :
(1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

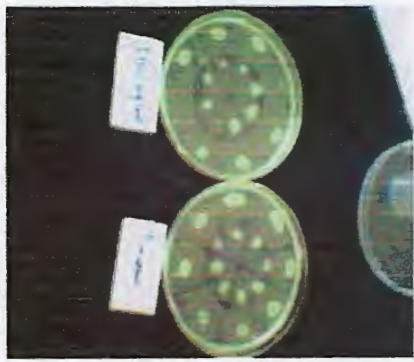
Ampicilline :



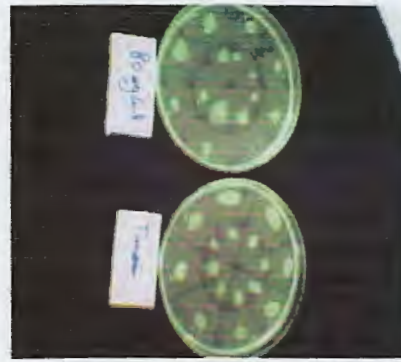
A



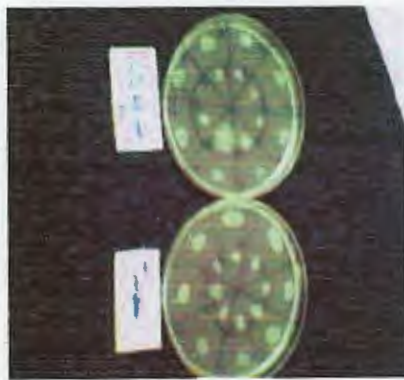
B



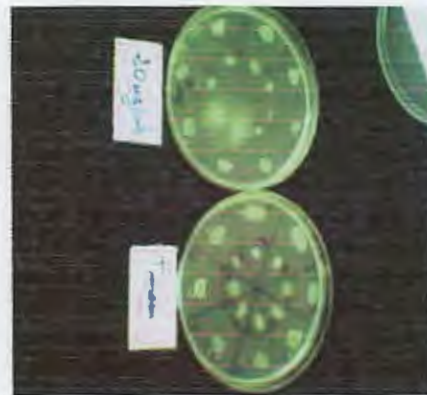
C



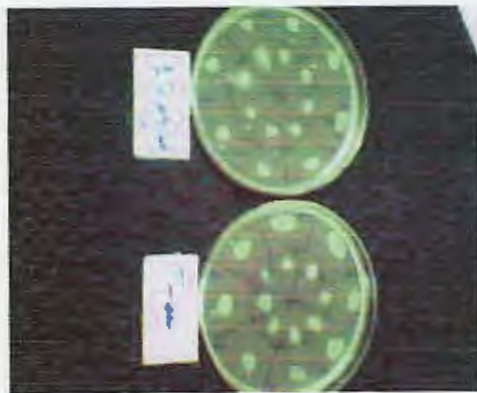
D



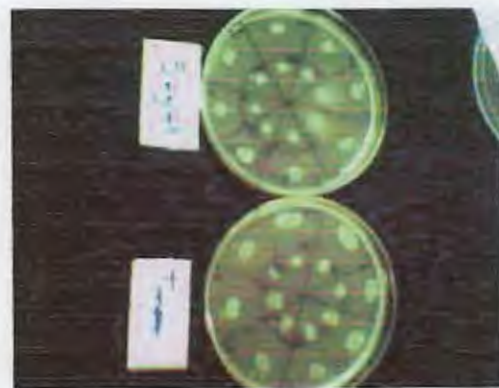
E



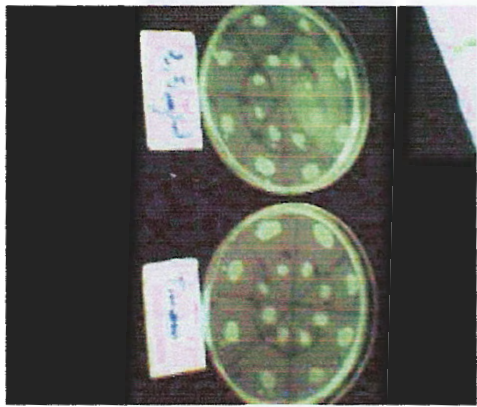
F



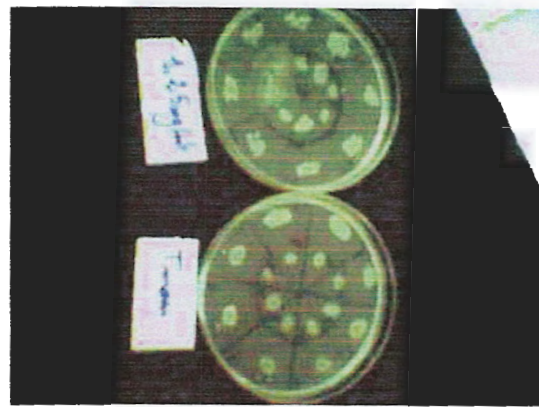
G



H



I



J

Figure n° 6 : Résultat de détermination de la CMI au l' Ampicilline

Figure n° 6 (A) : Gélose Muller hinton à [64 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (B) : Gélose Muller hinton à [32 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (C) : Gélose Muller hinton à [16 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (D) : Gélose Muller hinton à [8 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (E) : Gélose Muller hinton à [4 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (F) : Gélose Muller hinton à [2 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (G) : Gélose Muller hinton à [1 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (H) : Gélose Muller hinton à [0,5 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

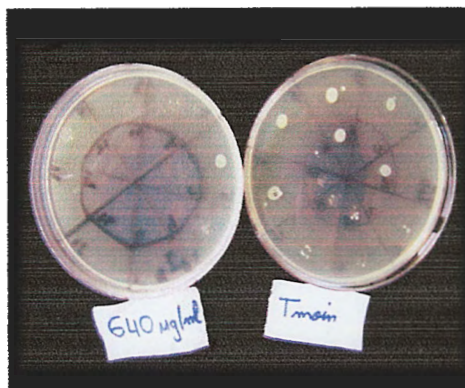
Figure n° 6 (I) : Gélose Muller hinton à [0,25 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 6 (J) : Gélose Muller hinton à [0,125 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

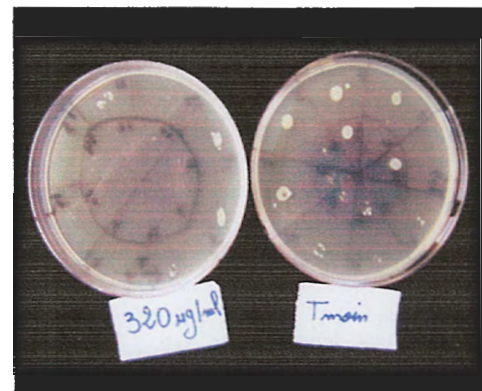
Résultats de détermination de la CMI pour Streptomycine :

Les valeurs de la CMI retrouvés pour les différentes souches sont variées entre 0,125 μ g/ml et 64 μ g/ml.

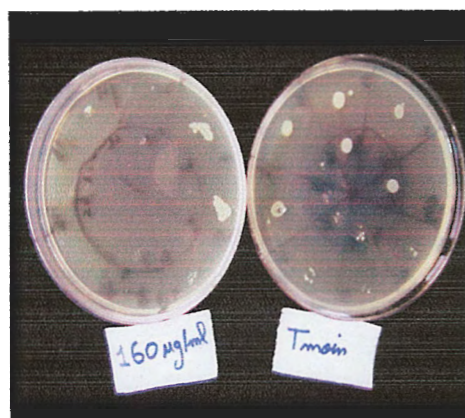
D'après ces résultats, Il semblerait que les CMI retrouvées pour les différentes souches sont plus hautes que ceux enregistrées par les différentes publication, ce qui nous permettons dire que les souches isolées localement sont de plus en plus résistantes aux antibiotiques qu'étaient qualifiées les ATB efficaces comme la streptomycine.

Streptomycine :

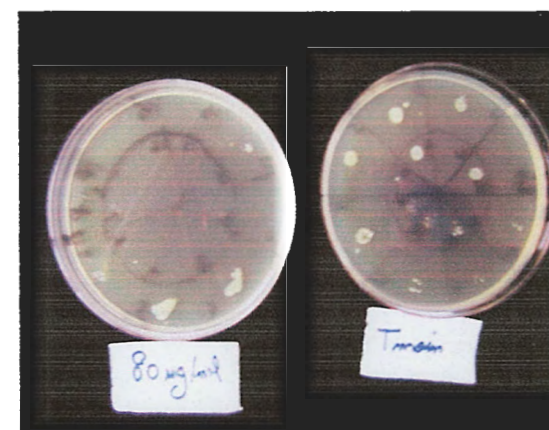
A



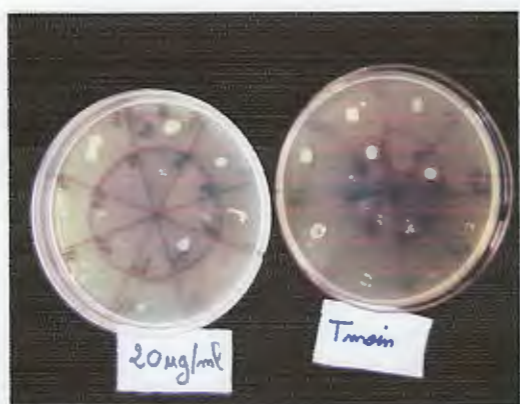
B



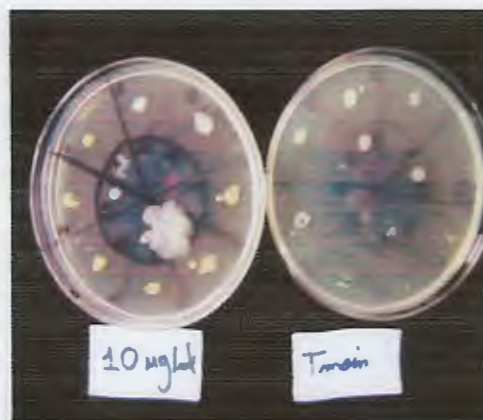
C



D



E



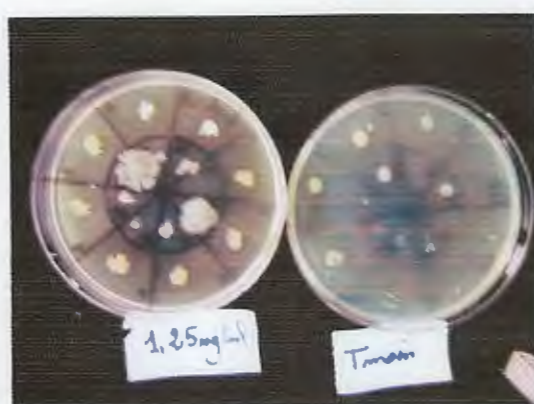
F



G



H



I

Figure n° 7 : Résultat de détermination de la CMI au Streptomycine

Figure n° 7 (A) : Gélose Muller hinton à [64 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (B) : Gélose Muller hinton à [32 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (C) : Gélose Muller hinton à [16 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (D) : Gélose Muller hinton à [8 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (E) : Gélose Muller hinton à [2 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (F) : Gélose Muller hinton à [1 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (G) : Gélose Muller hinton à [0,5 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (H) : Gélose Muller hinton à [0,25 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 7 (I) : Gélose Muller hinton à [0,125 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Résultats de détermination de la CMI pour le thiamphenicol:

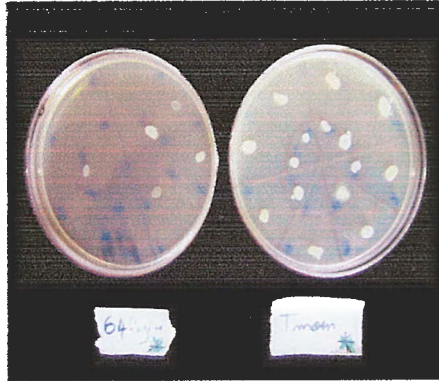
- Les phénicoles sont connus pour leurs hémato toxicité irréversible, leurs utilisations ne sont donc justifiées que dans les cas les plus graves.
- Les résultats obtenus sont alors montrés avec l'apparition des souches d'*E.coli* résistantes au chloramphénicol (78,57%).

La détermination des CMI confirme ces résultats en effet, les valeurs obtenues sont variées entre 4µg/ml et 64µg/ml pour le thiamphenicol en remplacement le chloramphénicol qui n'est pas trouvé dans le marché .

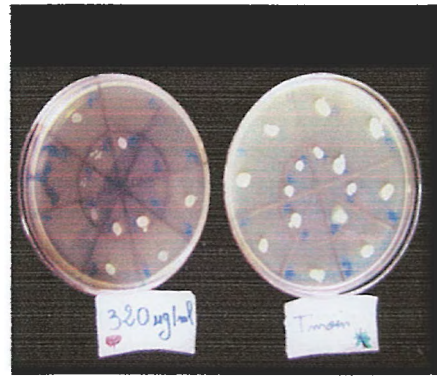
Si on prend en considération l'origine des souches et qui sont isolées à partir des produits pathologiques des animaux nous pouvons conclure qu'une résistance envers ces

molécules est entrains de s'installer vue l'utilisation de cette famille d'antibiotique d'une manière élicite et anarchique.

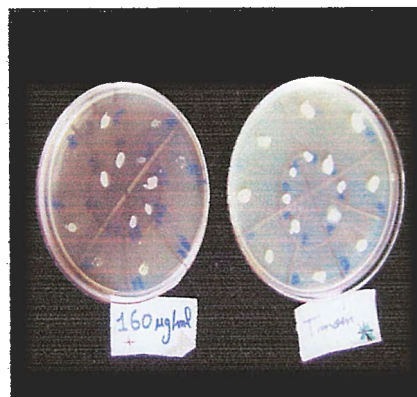
Thiamphinécol :



A



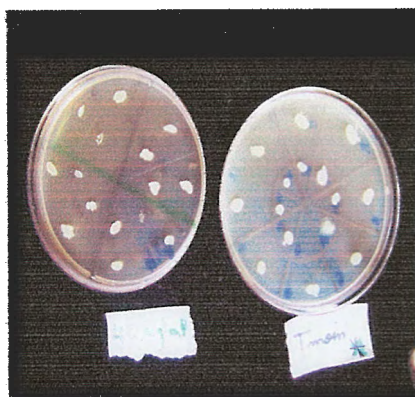
B



C



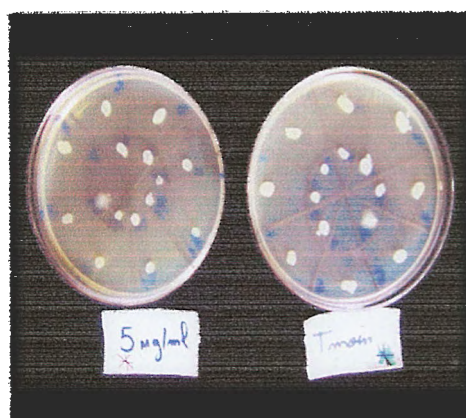
D



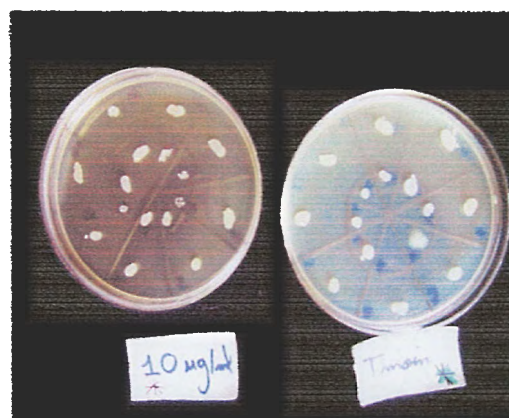
E



F



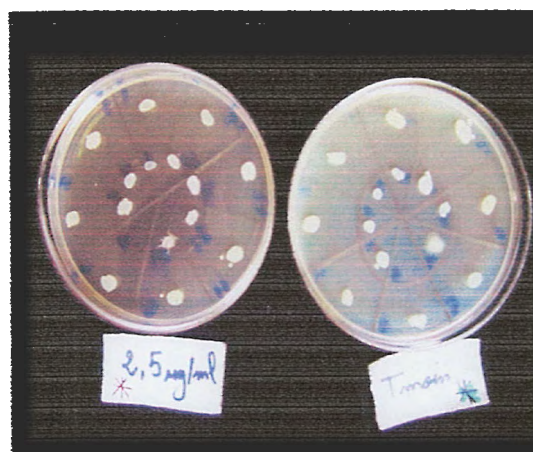
H



G



J



I

Figure n° 8 : Résultat de détermination de la CMI au Thiamphinécol

Figure n° 8 (A) : Gélose Muller hinton à [64 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (B) : Gélose Muller hinton à [32 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (C) : Gélose Muller hinton à [16 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (D) : Gélose Muller hinton à [8 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (E) : Gélose Muller hinton à [4 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (F) : Gélose Muller hinton à [2 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (G) : Gélose Muller hinton à [1 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (H) : Gélose Muller hinton à [0,5 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (I) : Gélose Muller hinton à [0,25 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

Figure n° 8 (J) : Gélose Muller hinton à [0,125 µg/ml] représente les souches : (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16)

CONCLUSION

Conclusion :

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine ou vétérinaire doivent faire preuve d'une bonne sélectivité d'action et aux concentrations utilisées, l'action toxique doit s'exercer au niveau du micro-organisme pathogène, sans perturber les cellules de l'hôte.

Les résultats obtenus par la méthode de l'antibiogramme montrent que les 7 types d'antibiotiques ont une activité antibactérienne relativement faible vis-à-vis des différentes souches d'*E. coli*. En effet les taux de résistance varient entre 70 à 100%. Ces résultats sont alarmants surtout si on prend en considération le fait que ces souches sont isolées à partir des denrées alimentaires d'origines animales.

Les résultats de détermination de la CMI par la méthode de diffusion sur gélose de 4 types d'antibiotiques sur les 16 souches différentes d'*E. coli* montrent que toutes ces souches sont résistantes à l'Amoxicilline de concentration supérieure à 64 µg/ml, mais elles représentent une sensibilité variable envers les autres antibiotiques (Ampicilline, Streptomycine, Thiamphénicol.), à des concentrations comprises entre 64 µg/ml et 0,125 µg/ml.

Ces résultats sont loin d'être finaux et d'autres travaux avec des méthodes plus précises sont envisagés et peuvent avoir une application dans les domaines pharmacologiques et thérapeutiques.

Annexes

Annexe 1 : milieux de cultures :

➤ Eau physiologique :

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000 ml

➤ Gélose Héктоen :

Proteose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaires	9g
Citrate de fer ammoniacal	1.5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fushine acide	0.1g
Bleu de bromothymol	65g
Gélose	13g
PH	7.5

➤ Milieu Muller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Gélose	10g
PH	7.4

➤ Gélose nutritive ordinaire :

Extrait de viande de bœuf	5g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Gélose	15g
PH	7.2

Annexe 2 : Réactifs et colorants :

➤ Fushine de ziehl :

Fushine basique	1g
Alcool éthylique à 90ù	10ml
Phénol	5g
Eau distillée	100ml

➤ Lugol :

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	300ml

➤ Violet de gentiane :

Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90%	10ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

Tableau n° : les diamètres des zones d'inhibitions :

	Les souches	TE 30 µg m m	AM X 25µg mm	CS 50 µg m m	C 30 µg m m	SS S 200 µg m m	A M 10 µg m m	S 10 µg m m
01	Lac+29	0	R 0	R 15	S 18	R 0	R 11	R /
02	E ₆ lac+	0	R 0	R 0	R 20	I 0	R 0	R /
03	L+ch. S	0	R 0	R 16	S 21	I 10	R 0	R /
04	L (+) 07	0	R 0	R 0	R 0	R 0	R 0	R /
05	Lac+61.c.E	0	R 0	R 14	S 20	I 0	R 0	R /
06	3 Lac+	0	R 0	R 11	S 0	R 0	R 0	R /

07	Lac+19	14	R	0	R	11	S	13	R	0	R	0	R	/	
08	Lac+6	0	R	0	R	12	S	20	I	0	R	0	R	/	
09	113/36/L+	19	S	0	R	15	S	21	I	0	R	13	I	/	
10	Lac+ch. S 2FRE	18	I	0	R	16	S	0	R	2	R	0	R	/	
11	Lac+.ch. R 3	0	R	0	R	16	S	23	S	15	I	11	R	/	
12	Lac+.ch.S :44	0	R	0	R	0	R	20	I	0	R	0	R	/	
13	Lac+ch.R : 31	0	R	0	R	13	S	16	R	0	R	0	R	/	
14	Lac+ :38//6	/		0	R	12	S	15	R	/		0		11	R
15	Lac+ (-32)	22	S	07	R	16	S	24	S	16	I	18	S	/	
16	Lac+.ch.R.38	0	R	0	R	0	R	24	S	0	R	0	R	/	
17	30L+	0	R	0	R	16	S	20	I	0	R	0	R	/	
18	L+ch.R.29	15	R	0	R	13	S	14	R	0	R	0	R	/	
19	Lac+21	0	R	0	R	14	S	20	I	0	R	0	R	/	
20	E ₂ L+	/		0	R	14	S	20	I	/		/		9	R
21	Lac+33	0	R	0	R	13	S	15	R	0	R	0	R	/	
22	Lac (+) 19	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R	/	
23	Lac +07/15	0	R	0	R	14	S	21	I	0	R	13	I	/	
24	5Lac+	18	I	0	R	16	S	23	S	21	S	0	R	/	
25	40 L+ 114	22	S	0	R	17	S	22	I	2	R	16	I	/	
26	250L+	2	R	0	R	13	S	21	I	/		0	R	16	S
27	Lac+10	0	R	0	R	/		24	S	0	R	0	R	0	R
28	Lac+ch.S.26	0	R	0	R	/		26	S	0		/		12	R

ANTIBIOTIQUES					Concentration Critique µg/ml	Diamètre des zones			
		Dénomination commune	Code	Charge µg/ml		R	I	S	
β-lactamines	Pénicillines	G	PénicillineG	P	6	0.25-16	<8	8-28	≥29
		A	Ampicilline	AM	10	4-16	<11	11-16	≥17
			Amoxicilline	AMX	25	4-16	<14	14-20	≥21
			Amoxicilline+A Clavulanique	AMP	20	4-16	<14	14-20	≥21
			Carbénacilline	CB	100	128	<15		≥15
			Ticarcilline	TIC	75	128	<13		≥13
			Aziocilline	AZ	75	16-128	<10	10-18	≥19
			Mézlocilline	MZ	75	8-32	<16	16-20	≥21
			Pipéracilline	PIP	100	16-128	<13	13-19	≥20
		M	Mecillinam	MEC	25	1-8	<17	17-22	≥23
	Méticilline		DP	5	2	<20	12-17	≥20	
	Oxacilline		OX	5	2	<20	12-17	≥20	
	Céphalosporines	I	Cefalotine	CF	30	8-32	<12	12-17	≥18
			Cefaloridine	CD	30	8-32	<12	12-17	≥18
			Cefalexine	CN	30	8-32	<12	15-21	≥18
			Cefazoline	CZ	30	8-32	<12	15-21	≥18
		II	Cefoxitine	FOX	30	8-32	<15	15-21	≥22
			Cefamandole	MA	30	8-32	<15	15-20	≥22
			Cefuroxime	CXM	30	8-32	<15	15-20	≥22
		III	Cefotaxime	CTX	30	4-32	<15	14-20	≥21
			Ceftriaxone	CRO	30	4-32	<15	14-21	≥21
			Cefopérazone	CFP	30	4-32	<14	17-22	≥21
			Cefsulodine	CFS	30	8-32	<14	15-20	≥22
			Moxalactam	MOX	30	4-32	<17	15-16	≥23
			Ceftardime	CAZ	30	4-32	<15	15-16	≥21
		Aminosides	Streptomycine	S	10UI	8-16	<13	13-14	≥15
	Gentamicyne		GM	10	4-8	<14	14-15	≥16	
Tobramycine	NN		10	4-8	<14	14-15	≥16		
Sixomycine	SIS		10	4-8	<14	14-15	≥16		
Dibekamycine	DKB		10	4-8	<14	14-15	≥16		
Amikacine	AN		30	8-16	<15	15-16	≥17		
Netilmycine	NET		30	4-8	<17	17-18	≥19		
Kanamycine	K		30	8-16	<15	15-16	≥17		
Néomycine	N		30	8-16	<15	15-16	≥17		
Paromomycine	PAR		30	8-16	<15	15-16	≥17		
Phénicolés	Chloramphenicol	C	30	8-16	<19	19-22	≥23		
	Thiamphenicol	TP	30	8-16	<19	19-22	≥23		
Tétracyclines	Tetracycline	TE	30	4-8	<17	17-18	≥19		
	Oxytétracycline	OT	30	4-8	<17	17-18	≥19		
	Doxyciline	D	30	4-8	<17	17-18	≥19		
	Minocycline	ML	30	4-8	<17	17-18	≥19		

Macrolides	Vrais	Erythromycine	E	15	1-4	<17	17-21	≥22
		Oléandomycine	OL	15	1-4	<17	17-21	≥22
		Spiramycine	SP	100	2-8	<16	16-21	≥22
	Apparenté	Linomycine	L	15	2-8	<17	17-20	≥21
		Clindamycine	CC	2	2	<15		≥15
		Virginiamycine	SA	15	2	<19		≥19
		Pristinamycine	PR	15	2	<19		≥19
Polypeptides	Bacitracine	B	10	2	<15		≥15	
	Plymyxine	PB	300	2	<15		≥15	
	Colistine	CL	250	2	<8	8-10	≥11	
Sulfamides	Sulfamides	G	30	100-350	<12	12-16	≥17	
	Trimethoprime-Sulfamide	SXT	20	2-8	<10	10-16	≥15	
Quinolones	A.nalidixique	NA	30	8-16	<15	15-10	≥20	
	A.pipémidique	PI	20	8-16	<14	14-10	≥19	
	A.pefloxacine	PEF	5	1-4	<6	16-21	≥22	

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

- Anonyme 2002**, *E.coli* associée aux colibacillooses animales.
- Avril J.L, Henry D, François D, 1992**, Bactériologie clinique.Edition 2.
- Avril J.L., 1991**, Dictionnaire pratique de bactériologie clinique .Ellipses Paris, P : 42-45.
- Avril.J.L, Dabernat H, Denis F., Montiel H., 1992** .Bacteriologie clinique. Edition Marketing (1^{ère} édition), Paris, P : 149-158.
- Berche P., Gaillard J.L.Simonet M., 1981**, Bactériologie Flammarion clinique (2^{ème} édition) P : 100-110-593-600.
- Bousseboua .H, 2002**, élément de microbiologie, Ed .de université mentouri, constantine, Algérie. , P : 161-167.
- Brehon S, Certain A, Giaraud C., 2000**. L'alcool dans les médicaments par voie orale ou injectable.Journal de pharmacie clinique, 1 (19) ,32.
- Burnichon Nelly ,texier ,Anthony,2003**. L'antibiogramme.
- Carbonnelle et al ., 1992**,Bactériologie médicale et techniques nouvelles .Ed SIME –SA.Paris. (France) ,126-130.
- Courvalin –patrice, 1997**, évolution de la résistance aux antibiotiques in médecine .sciences n° =8-9 .Ed.Masson ,925-926.
- Duval.J, Soussy .C.J., 1990**, Antibiothérapie, 4^{ème} édition.Ed.Masson, P : 75-151.
- Eberlin T., 1994**. Les antibiotiques, classification, mode d'action, utilisation thérapeutique.Ed. 2_
- Edberg ,SC, EW Rice ,RJ Karlin et MJ Allen,2000**, Escherichia coli :the best biological drinking water indicator for public health protection ,journal of Applied Microbiology ,P:88.
- Ey quem A., Alouf J., Montanier L et Al., 1998**. Traité de microbiologie clinique, piccur nouva, libraria S.P.A. Padoue, Italie, P : 369-375-388-391.
- Farouk .M .M.,Wieliczka .K.J.,Merts.T.,2003**.Ultra –Fast Freezing and long storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef ,meat science .66:171-179.

Fasquelle R., 1974, Elément de bactériologie médicale. Edition 9^e, Paris, P.108-111-139.

Ferron A, 1994, Microbiologie médicale Ed, C et R.

Ferron A., 1976, Bacteriologie à l'usage des étudiants en médecine. Edition Gouan et roques (8^{ème} édition), P : 49.

Gazengel J. M; 2007.Le préparateur en pharmacie

George G., Zhanel, Mel Decorby, Kin Anichol, et al., 2008, Journal of hospital inection, volume 69.Issue 2. P: 117-180.

Hardman J; 1996, Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. Ed. The MC crow Hill compains, Now York .P:1117-1142.

Houichon, 2002, L'évolution de la sensibilité aux antibiotiques des souches bactérienne isolé sur prélèvement d'urine.

Jack A ., Jack M, 1995.Les maladies infectieuses. Edition Vigot.Paris, P: 540.

Jlon.vanmark, 1996. Prévention de la maladie de Marek, A érapie, 4^{ème} édition.Ed.Masson, P :78-79

Joffin C., Joffin J.N., 1993 Microbiologie alimentaire .5^{ème}ed. CRDP d'Aquitaine Bordeaux, P : 34-61.

Kessal .K . , 1993, les antibiotiques : classification, mode d'action, résistance, action in vitro .Ed, office des publications universitaires ,91.

Kessal.K; 1986. Les antibiotiques. Ed.OPU (Algérie)

Lall N., Meyer J.J.M., 1999, Ivitro inhibition of drug resistant and drug sensitive strains of my co bacterium tuberculosis by botanically selected south African plants, Journal of ethno pharmacology, Vol.66,Issue 3,P:347-354.

Lambin S., German A., 1969, Précis de microbiologie, Tome 1,2^{ème} edition, P : 203.

Larpent A., Larpent M., 1985. Elément de microbiologie.Hermanu France, P : 199-207.

Le Minor L., Verrow M.; 1989, Bactériologie médicale.Edition Masson (2^{ème} édition), P : 38

Leclere H ., Gaillard.J.I., Simonnet.M., 1995.Microbiologie générale

Moustradier 1972, Bactériologie médicale. Edition 4^e

- Nauciel C., 2000**, Bactériologie médicale. Edition Masson (2^{ème} Edition), P : 389.
- Neidhard.F.C., Ingraham J.L. Schachier., 1994.** Physiologie de la cellule bactérienne Une approche moléculaire : Masson Paris, P : 430-431.
- Prescot, Harly, Klein, 1996.**Microbiologie. Second édition. De Bock Wesmail S.A Bruxelles. P:326-338.
- Rice EW. , 1999**, *Escherichia coli* .Dans: American water works Association Manual of water supply Practices: water borne pathogens .P:75-78.
- Sutra L., Federighi., Trouve J.L., 1988**, Manuel de bactériologie alimentaire.Polytechnica Paris, P : 80-93.
- Yala.D, Merad.A.S.Mohamdi. M.N.Ourakorich; 2000.** Classification et mode d'action des antibiotiques.

DETERMINATION DES CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES AUX ANTIBIOTIQUES POUR 28 SOUCHES D'*E.coli*

RESUMÉ

Les antibiotiques ont des structures chimiques variées réparties en familles selon leur origine, leur structure chimique, ou leur mécanisme d'action, Ils sont utilisés comme des agents chimiques thérapeutiques pour l'homme ou l'animal. Dans le but de contribuer à l'étude de l'activité de 7 types d'antibiotiques sur 16 souches d'*E.coli*, identifiées.

Nous avons procédé la CMI par la méthode de diffusion sur gélose.

L'identification a montré que les 16 souches d'*E.coli* appartiennent à des différents chimiotypes.

Ces souches répondent avec une sensibilité variable envers les antibiotiques.

La détermination de la CMI se situe généralement entre les concentrations 64µg/ml et 0.125µg/ml et elle varie selon l'antibiotique et la souche considérée.

Mots clés : les Antibiotiques, *Escherichia coli*, CMI.

RESUMED

The antibiotics have chemical structures vary divided into families according to their origin, their chemical structure, or their mechanism of action, they are used like therapeutic chemical agents for the man or the animal. With an aim of contributing to the study of the activity of 7 types of antibiotics on 16 stocks of *E.coli*, identified. We proceeded the CMI by the method of diffusion on gélose. The identification showed that the 16 stocks of *E.coli* belong to different chimiotypes. These stocks answer with one sensitized variable towards antibiotics. The determination of the CMI is generally between the concentrations 64µg/ml et 0.125µg/ml and it varies according to antibiotic and the stock considered.

Key words: The antibiotics, *Escherichia coli*, CMI.

ملخص

المضادات الحيوية تملك صبغات كيميائية مختلفة تنقسم إلى عائلات حسب مصدرها، الصيغة الكيميائية وآلية التأثير. تستعمل مثل عوامل كيميائية علاجية للإنسان والحيوان. من أجل المساهمة في دراسة نشاط 7 أنواع من المضادات الحيوية وتأثيرها على 16 سلالة بكتيرية من *E.coli* قمنا بتحديد الـ CMI بطريقة الانتشار على الجلوز.

التعرف أكد بأن السلالات 16 لـ *E.coli* تنتمي إلى أنواع كيميائية مختلفة. هذه السلالات تستجيب بحساسية مختلفة اتجاه المضادات الحيوية.

تحديد الـ CMI تقع يصفة عامة بين التراكيز 64 µg/ml و 0,125µg/ml وتختلف حسب نوع المضاد الحيوي والسلالة المعنية.

الكلمات المفتاح: المضادات الحيوية ، التركيز الأدنى المثبط (CMI) ، *Escherichia coli*