

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la prévention et la lutte contre les maladies infectieuses. Il vise principalement à contribuer à la compréhension des mécanismes par lesquels les bactéries échappent à l'effet létal des antibiotiques. En effet la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de souches multirésistantes, constituent l'un des facteurs principaux de l'échec de l'antibiothérapie. Cette résistance est due dans la majorité des cas, à la production par la bactérie, d'une enzyme la (β -lactamase) hydrolysant le noyau β -lactame de la molécule d'antibiotique.

Dans la première partie de ce travail, nous avons effectué, sous l'égide du Ministère de la santé publique, une étude épidémiologique dans laquelle nous avons entrepris deux exemples illustrant la multirésistance des germes pathogènes aux antibiotiques :

L'évaluation du taux de multirésistance aux antibiotiques dans la région de Meknès. Etude réalisée au Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital provincial de la ville de Meknès.

Une étude de la contamination bactérienne des bains traditionnels publics de cette ville. Etude réalisée au Laboratoire d'épidémiologie de la santé publique de la province de Meknès.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous sommes parvenus à isoler trois souches de bactéries BS1, BS2, BS3 thermophiles et résistantes aux antibiotiques. La souche BS3 étant sélectionnée pour sa production maximale en β -lactamase, ses conditions de culture et de production optimales de production en enzyme ont été déterminées.

La souche BS3 est très proche de *Bacillus licheniformis*, mais présente des caractéristiques physiologiques et biochimiques différentes ce qui montre l'originalité de cette souche isolée.

Après purification de la β -lactamase BS3, nous avons déterminé ces caractéristiques et étudié son profil de substrats, sa stabilité, sa thermostabilité et nous avons cloné et séquencé le gène codant la production de cette enzyme. Cette protéine présente pour la première fois les caractères d'une β -lactamase appartenant aux micro-organismes thermophiles. Elle est plus thermostable que les β -lactamases déjà purifiées.

L'étude comparative des β -lactamases de la souche BS3 et de *Bacillus licheniformis* a montré quelques points de divergence concernant le comportement de cette β -lactamase vis-à-vis de certains substrats, une stabilité et une thermostabilité plus élevées. L'alignement des deux séquences nucléotidiques du gène codant pour la production de β -lactamase BS3 a décelé un degré d'isologie de 95% avec des mutations non silencieuses très proches des motifs conservés caractérisant la β -lactamase de classe A.

Grâce au clonage nous avons pu surproduire dans *Escherichia coli* via le plasmide pET22b et sous la dépendance du promoteur fort et inductible de la T7 ARN polymérase, 300 à 400 fois plus d'enzyme que celle excrétée par la souche BS3.

Mots clés : Germes pathogène, multirésistance, thermophiles, pénicillines, céphalosporines, β -lactamase, purification, profil de substrat, thermostabilité, clonage, séquençage, surexpression.