

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire de Mila Institue Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

N° D'ordre :

Série:

Spécialité : Biochimie

Mini-Projet

Thème :

Isolement et identification de *Klebsiella spp.* et antibiorésistance

Présenté par :

MEDKOUR GHADA.

BOURAS RAOUIA.

PROMOTEUR : BOUBENDIR ABDELHAFID

Année Universitaire 2011/2012

Avant tout je remercie mon dieu qui ma donnée la patience et la
force pou réaliser ce modeste travail .

Aux deux personnes les plus chères au monde , le symbole de
tendresse et d'amour , ma chère mère et mon chère père , que dieu
me le garde .

A mes chères frères : mohamed et sa femme ouahiba,
hamza , ameur

A mes chères sœurs :hanifa , soumia .

A mes nieces : abd elah, amatolah .

A ma chère collègue au travaille Rachid : merci pour m'avoir
donné le soutien moral qui ma guidé à faire ce travail

A mes cousin et cousin : sara , raoui

A mes amies : samah ,kanza , sara , amira , leila, aicha ,
khadija , ahlam , amel .

A mes enseignaient en biologie : et surtout M , Boubendir ,
M .Karriche , M Zeouaghi .

Enfin je dédie ce modeste travail à la promotion de

BIOCHIMIE

2011/2012

Dédicaces

Avec l'aide de dieu tout puissant est achevé le présent travail que je dédie:

A mes espoirs dans la vie, les plus chères personnes que je n'arrive pas et je n'arriverai jamais à rendre ce qu'ils m'ont donnés, les plus beaux personnes du monde, mes parents, pour ses dévouements, ses compréhensions, ses grandes tendresses et ses prières pour moi. Que dieu tout puissant les garde pour moi.

A mon encadreur BOUBENDIR.A et toutes mes enseignants

Mon chère frère Nasro pour son soutien physique et moral.

Ma chère sœur: Amira pour leurs soutiens et encouragements.

A ma grande famille

A mes chères amies. Ismahane et Sara et Amira et Sara

A tous mes autres amies sans exception (tous les étudiants de 3ème année biologie)

A toute personne qui m'a aidé de loin ou de près.

A tous ceux que j'aime et m'aime, je dédie ce modeste mini projet qui j'espère être à la hauteur de leur espérance.

Raouia

Remerciements

- ✚ *Avant tout ont remercié le grand Dieu de nous avoir donné le courage et la sante pour mettre au point ce modeste travail.*
- ✚ *On remercié notre promoteur BOUBENDIR.A, pour sa patience et ses conseils.*

- ✚ *On remercié aussi le personnel du laboratoire de bactériologie des hôpitaux « Boukentoucha el Meki » de Chelghoum Laid et « les sept frères Meghlawi » mila, surtout M.Boukrouh Nassima pour nous avoir accueillie et nous a permis de manipuler en tout aise.*

- ✚ *Nous voudrions également témoigner notre reconnaissance à tous nos enseignants de la faculté de Biologie département de science et de technologie et plus particulièrement celui de la spécialité de biochimie*

- ✚ *A tous ce qui nos ont aidé, merci.*

Table des matières

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
Liste des photos	iv
Introduction	v

PREMIERE PARTIE : Recherche bibliographique

CHAPITRE1 : *Klebsiella spp.*

1. Classification	1
2. Caratères généraux	2
2-1 Caratères physiologiques	3
2-2 Caratères biochimiques	4
2-3 Caratères antigéniques	5
3- Pouvoir pathogène	5
4- Ecologie et épidémiologie.....	7
5 Caratères moléculaires	7
4 5- Source et mode de transmission.....	8
6- <i>Klebsiella spp.</i> dans l'eau	9
7- <i>Klebsiella spp.</i> dans le sol.....	9

CHAPITRE 2 :Les antibiotiques

1 -Les principaux antibiotiques dans le monde	10
2-Les principaux antibiotiques on Algérie	14
3-Les principaux antibiotiques de l'hôpital « Boukentoucha el Meki » Chelghoum Laid	16
4-Le mode d'action des antibiotiques	16
4-1 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire.....	17
4-2 Inhibition de la synthèse protéique	17
4-3 Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	17
4-4 Inhibition de la membrane cytoplasmique	17
5- Les principes mécanismes de la résistance aux antibiotiques.....	19
6- Taxonomie de la résistance	19
6-1 Résistance naturel	19
6-1 Résistance acquis	19
7- Les gènes qui codent la résistance contre les antibiotiques et leur localisation.....	20
8-Les enzymes résistantes aux antibiotiques	21
9-Les inhibiteurs des enzymes	22

DEUXIEME PARTIE : Recherche Expérimentale

• Matériel et méthode

1-Matériel	23
1-1 Matériel et methode	23
1-2 Methode	24
1-2-1 Isolement	24
1-2-2 Identification.....	26
1-3La coloration de Gram	26
1-4 Identification avec galerie biochimique.....	27
1-5 L'antibiogramme.....	29
• Recherche de β - lactamase a spectre élargie	30

- **Résultats et Discussion**

1-Isolement	30
2- Identification	30
3-Antibiogramme	34
4- L'historique des Antibiotiques entre (2009-2012).....	36

Conclusion

Bibliographique

Liste des abréviations

RM	Rouge de méthyle
VP	Voges Proskauer
MH	Muller Hinton
ATB	Antibiotique
C3G	Céphalosporines de troisième génération
BLSE	Bétalactamase à spectre élargie
CMI	Concentration minimale inhibitrice
KESH	<i>Klebsiella</i> , entérobactérie, <i>Serratia</i> , <i>Hafnia</i>
PM	Poids moléculaire
TN	Transposons
TSI	Glucose, lactose, saccharose, H ₂ S
PB	Paire de base
PLP	Protéine de liaison aux pénicillines

Liste des tableaux

Tableau 01	Rang taxonomique et les noms
Tableau 02	Identification biochimique des entérobactéries et <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 03	La pathogénicité de différents empèse de <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 04	Principaux antibiotique dans le monde
Tableau 05	Principaux antibiotique de l'hôpital « Bokentoucha el meki » chelghom laid
Tableau 06	Mode d'action des antibiotiques chez <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 07	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 08	Exemple d'éléments génétiques transposable
Tableau 09	Les principaux enzymes résistants aux antibiotiques chez <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 10	Matériel et méthode
Tableau 11	Les souches isolée dans l'hôpital « les sept frères meghelaoui » mila
Tableau 12	Les souches isolée dans l'hôpital« Bokentoucha el meki » chelghom laid
Tableau 13	Identification biochimique
Tableau 14	Résultat de la résistance et la sensibilité de <i>Klebsiella spp.</i>
Tableau 15	Résultat de galerie biochimique
Tableau 16	L'historique de résistance des antibiotiques 2009 dans l'hôpital «les sept frères Meghlaoui » Mila
Tableau 17	L'historique de résistance des antibiotiques2010 dans l'hôpital «les sept frères Meghlaoui » Mila
Tableau 18	L'historique de résistance des antibiotiques 2011 dans l'hôpital «les sept frères Meghlaoui » Mila
Tableau 19	L'historique de résistance des antibiotiques 2012 dans l'hôpital «les sept frères Meghlaoui » Mila
Tableau 20	Le pourcentage de la résistance des différents antibiotiques

Listes des figures

Figure N° 01	L'enveloppe des bactéries à Gram ⁻
Figure N°02	Représentation schématique des facteurs de pathogénies de <i>Klebsiella spp</i>
Figure N°03	Nucléotides dans les cellules en croissance
Figure N°04	avant le traitement à la pénicilline
Figure N°05	Lyse de la bactérie à la suite d'un affaiblissement de la paroi bactérienne imputable à la pénicilline
Figure N°06	Le matériel d'étude
Figure N°07	Étalement sur une boîte par la technique des stries
Figure N°08	Les méthodes d'ensemencement
Figure N°09	Résultat de test oxydase

Liste des photos

Photo N° 01	L'ensemencement par la méthode de stries dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 02	<i>Klebsiella oxytoca</i> en milieu de Muller de Hinton dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 03	<i>Klebsiella oxytoca</i> après la coloration de Gram dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 04	Le test de TSI dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 05	Le test de VP dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 06	Résultat de test catalase dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 07	La résultat de l'antibiogramme dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 08	Méthode de mesure le diamètre dans l'hôpital de « boukentoucha el meki » Chelghoum laid
Photo N° 09	Profil de BLSE « BOUCHAN DE CHAMPAGNE »

Introduction

Bien que des millions de microorganismes d'espèce différentes vivent dans et sur le corps humain, leur présence est normalement bénéfique à l'hôte et est même essentielle dans certains cas, ces microbes forment la microflore normale ou commensale. Le corps humain possède un grand nombre de mécanismes de défense représentés par le système immunitaire, qui le protège contre des microbes capables de provoquer une maladie en infectant leur hôte. Parmi ces bactéries *Klebsiella spp.* qui peut vivre dans le corps humain, et ne peut être pathogène que dans certaines conditions : individu immuno-déprimé, diabétique, personne âgée ou encore les alcooliques.

Le genre *Klebsiella spp.* appartenant de la famille des entérobactéries, elle a été nommée par (Trivisan 1885) pour honorer le microbiologiste Allemand Edwin Klebs (1834-1913), la première espèce *Klebsiella* décrite était capsulée et bacille issu des patients atteints de *rhinosclérome*, les organismes nommées « *Klebsiella rhinoscléromatis* » par Trivisan 1887.

Abel (1893) a observé une bacille capsulée « *Bacillus mucosus ozaena* » de la sécrétion nasale des patients atteints de « l'ozène », la bactérie a été transférée plus tard au genre *Klebsiella* comme « *Klebsiella ozaenae* », par (Bergey et al., 1925)

Friedlander 1882 décrit une bactérie dans les poumons d'un patient qui avait mort par *pneumoniae*, l'organisme a été nommé « *Hyalococcus pneumoniae* » par Trivisan 1887. Lorsque *Klebsiella spp.* est pathogène, il faut traiter ces germes par l'utilisation des antibiotiques, les antibiotiques sont des substances chimiques, organiques produits par un petit nombre de microorganismes et exerçant une action toxique envers d'autres microorganismes dont principalement les bactéries, cette action toxique peut être seulement inhibitrice de la croissance elle est alors bactériostatique et réversible souvent elle peut aussi être létale et dans ce cas elle est bactéricide et irréversible souvent un même antibiotique peut exercer l'un ou l'autre de ces effets en fonction de sa concentration les bactéries résistent aux antibiotiques ce phénomène est défini comme la capacité d'une bactérie à survivre à une concentration bien déterminée de cette molécule pour prendre une vue approchée sur ce problème et connaître la menace que risque nos hôpitaux nous avons essayé de mener une étude microbiologique au sein des hôpitaux « Boukentoucha el Meki » de Chelghoum Laid et « Les sept frères Meghlawi » Mila, chef-lieu de l'isolement et l'identification des souches de genre *Klebsiella spp.* Et étude leur

PARTIE : 01
RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

1-Classification : (Tableau N° : 01)

- **Selon l'espèce**

Selon Cabonnel et al (1987) le genre est composé de quatre espèces :

- *Klebsiella pneumoniae*

- *Klebsiella oxytoca*

- *Klebsiella rhinoscléromtis*

- *Klebsiella ozaena*

Selon Djalouat (2009) , on distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques :

- *Klebsiella pneumoniae* , comprenant 2 sous espèce ozaena et rhinoscléromtis

- *Klebsiella oxytoca*

- *Klebsiella planticola*

- *Klebsiella terrigena*

- *Klebsiella ornithinolytica*

Selon Didier (2002) , *Klebsiella pneumoniae* contient 3 sous espèce , pneumonia ozaena , rhinoscléromtis .

- *Klebsiella oxytoca*

- *Klebsiella planticola*

- *Klebsiella terrigena*

- **Selon la séquence du gène de l'ARN 16S**

Klebsiella spp est une protéobactéries du groupe Y (Didier, 2002)

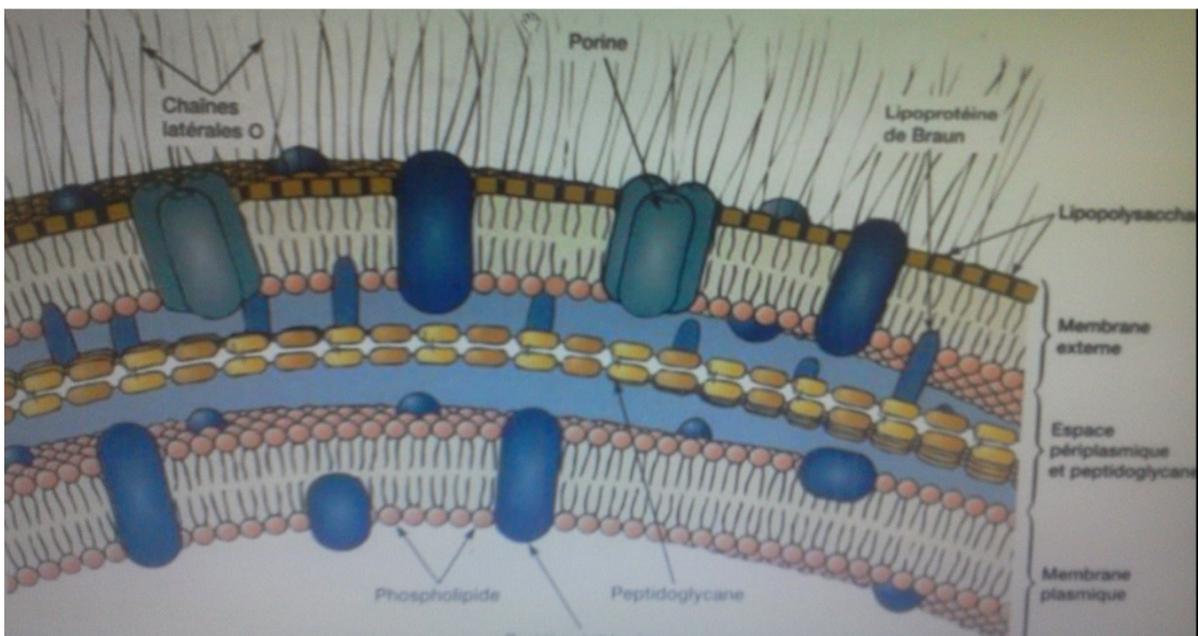
Rang taxonomique et les noms

Tableau N° : 01 Rang taxonomique et nom de *Klebsiella spp.* (Prescott et Klein, 2003)

Rang	Noms
Domaine	<i>Bacterio</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Y. proteobacteries</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Klebsiella</i>
Espèce	<i>K. oxytoca</i>

2-Caractères généraux :(Figure N° 01)

Klebsiella spp. appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (Jacques et Berthet ,2006) , elle fait partie du groupe « **KESH** » (Université Paris-VI Pierre et Marie ,2003), leurs taille varie de 0,3 a 1 μm de diamètre et 0,6 a 6 μm de longueur , anaérobie facultatifs (Cavaret et Briffaud, 2009) , bacilles a gram négatif , non mobile et généralement encapsulée et non sporulée en forme bâtonnet (Jacques et Berthet, 2006) , elle sont chimio-organotrophes et flore fécale endogène .(Prescot et Klein, 2003)

Figure N °01 : L'enveloppe des bactéries à Gram⁻ (Prescott et Klein , 2003)

2-1 Caractères physiologiques

- **La Température:** la majorité des microorganismes se développe bien au température préfèrent l'homme : *Klebsiella spp.* capable de croître au température 37 à 40°C (Madigan et Martin ,2007)

- **Le PH :** le PH est une mesure de l'activité d'ions hydrogène d'une solution et est définie comme le logarithme négatif de la concentration en ions hydrogène

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = \log 1/[\text{H}^+]$$

Klebsiella spp. Est une bactérie acidophile, leur PH optimum de croissance est entre PH=1 et 5,5

2-2 Caractères biochimiques: (Tableau N°: 02)

Tableau N° 02: L'identification biochimique des Entérobactéries(Guiraud, 1998) , (Jerom et Al, 2004), (Madigan et Martinko ,2007), (Prescot et Klein, 2003) .

Mobilité	Gaz	lactose	Bglal (onpg)	Saccharose	Uréase	indole	VP	RM	H ₂ S	Citrate	Malonate	Mannitol	Gélatinase	LDC	ODC	ADH	TDA	APP	KCN	
+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	-	-	Arizona
+	+	+	+	V	V	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	V	-	-	+	Citrobacterfreundil
+	+	+	+	V	V	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	V	-	-	-	Citrobacterintermedius
+	+	-	-	-		+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	Edwardsiellatarda
+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	Enterobacteraerogenes
+	-	+	+	+	-	-	(+)	(-)	-	v	v	+	-	-	-	-	-	-	v	Enterobacteragglomerans
+	+	+	+	+	V	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	Enterobacter cloacae
+	-	-	-	V	-	-	+	-	-	v	v	-	+	-	-	-	-	-	-	Erwiniaamylovora
+	+	+	+	V	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	v	-	-	-	-	Escherichia coli
+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	v	+	-	+	+	-	-	-	+	Hafiaalvel
+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	Morganeilamorganil
-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	(-)	-	-	(-)	(-)	-	+	+	-	v	-	(-)	Absumbacteruimproteus
+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	v	-	-	+	-	+	-	+	+	+	Proteus mirabills
+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Proteus vulgaris
+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Providencloalcollfaciens
+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	Providencloretggerl
+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	V	-	-	-	Salmonella sgi
-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	v	-	+	-	+	+	V	-	-	-	Salmonella gallinarum
+	V	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	Serratiamarcescens
-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	Shigellasonnel
-	-	-	-	+	-	v	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Shigella (autres)
(+)	-	-	+	+	+	v	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	Yersinia enterocolitica
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	K .oxytoca
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	K. pneumoniae
-	V	V	-	-	-	-	-	+	-	v	+	+			v	-	-			K. ozaenae
-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+			-	-	-			K. rhinoscléromatis

v : variable (-) ou (+) : irrégulier ou lent - ou + : majorité des biotypes

- **Décarboxylation :**

Klebsiella spp. Est dicarboxylée les acides aminés conduits à la libération de CO₂ et à la formation d'une amine.



- **Excretion de polysaccharide :**

Klebsiella spp. libérée dans le milieu des macromolécules glucidiques, lévanes, dextrans, cellulose, etc.....(Joseph et Guiraud , 1998)

2-3 Caractères antigéniques:

Les membres du genre *Klebsiella* expriment typiquement deux types d'antigènes des surfaces cellulaires sur leur destruction.

- Le premier est l'**antigène O** : est une composante de lipopolysaccharide (LPS), dont 9 variétés existent on le trouve dans la paroi, thermostable (résistante 2 heures en un chauffage à 100 °C), une fraction protéique qui rend le complexe antigénique, fraction polysaccharidique (qui détermine la spécificité de l'**antigène**, très toxique).

- La seconde est l'**antigène K** : qui est un polysaccharide capsulaire avec plus de 80 variétés au moins 77 l'**antigène k** ont été décrits k1 à k72, k74, k75, k79,k82.

3- Pouvoir pathogène : (Tableau N°03)(Figure N°02)

Les *Klebsiella spp* sont responsables à

- Des infections broncho-pulmonaires en réanimation
- Des infections urinaires
- Des infections nosocomiales et méningites post chirurgicales (Djelouat, 2009), il peuvent aussi coloniser la bouche et la peau mais généralement au faible nombre (François et Al, 2007).

Tableau N° : 03 le pouvoir pathogène de différents espèces de *Klebsiella spp.*(Jerom et Al, 2004),(Berthet , 2006) (Michael et Mariton , 2007)

L'espèce	La pathologie
<i>Klebsiella. Oxytoca</i>	-Pneumopathies, infection urinaire, infection plaies, bactériémies Infection nosocomiale, intra-abdominale, infection sur cathéter et de surinfection de palais chirurgicale, colites aiguës, infection respiratoire et infection rénale.
<i>Klebsiella. Ozaenae</i>	-Ozène, infection de la peau et de la muqueuse nasale
<i>Klebsiella. Rhinoscleromatis</i>	-Rhinosclérome, infection de la peau et de la muqueuse nasale
<i>Klebsiella. Planticola</i>	- Pneumopathies, infection urinaire, bactériémies
<i>Klebsiella. Pneumoniae</i>	-Infection vitelline, lésions respiratoire fibrineuse, méningite cérébro-spinale, infection du foie et l'appareille respiratoire chez les jeunes oiseaux, pathologie digestif de jeunes lapins et pathologie aviaire -toutes les infections de <i>klebsiella oxytoca</i>

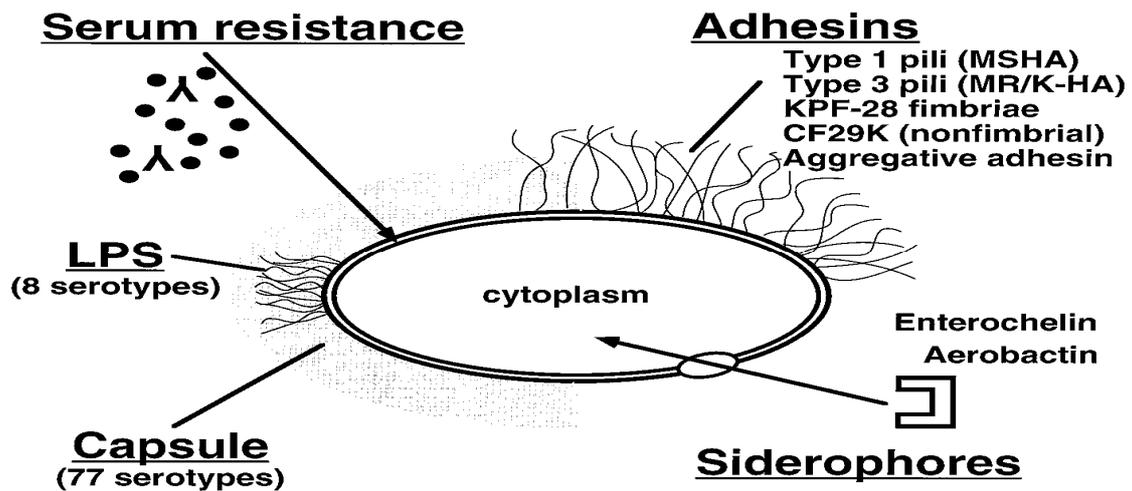


Figure N° 02 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *Klebsiella spp* (Podschun et Ulmann, (1998).

4- Ecologie et épidémiologie :

Elle est très répandue dans la nature ; dans le sol et dans l'eau, ce sont aussi des commensales du tube digestif des animaux et de l'homme qui peut également en héberger dans l'oropharynx (François et al ,2007), on peut le trouver aussi dans le vitelline et les troubles digestif, parfois *Klebsiella spp*. Peut habiter dans la peau (Université pierre et marie Curries ,2010).

5- Caractères moléculaires: (Figure N° 03)

- **-Plasmide conjugatif** : peuvent être transmis sur un mode horizontale entre bactéries, par un processus de conjugaison ou une taille supérieure à 30 Kb, les plasmides conjugatifs possèdent un opéron Tra sur lequel sont rassemblés les gènes codant pour la conjugaison et ils dirigent la synthèse de pili sexuels (Euzéby 2000)

- **L'ADN** : le pourcentage des bases (C+G) varie entre 53 à 58 %
- **ARN** Simple brin (linéaire)
- Séquence reconnue, site coupure GGAACC (Michael et Martinko, 2007)

- Une hémolyse et deux enterotonines (une thermolabile) (Guiraud ,1998)
- **Les endospores**, elles sont constituées d'ADN bactérienne entouré par plusieurs couches de protéines et de peptidoglycane très résistant à la chaleur et à la sécheresse (Nicolletal 2000)
 - **Les cassettes** (250 à 1500 Pb), possède une organisation commune: une cassettes est constituée d'un gène (souvent un gène de résistance aux antiseptique) et d'un site spécifique de recombinaison attc reconnu par l'intégrase plus de 60 cassettes impliquées dans la résistance aux antibiotiques ou aux antiseptiques ont été décrites ces cassettes portent des gènes de résistance aux β lactamines, au Aminosides, au Chloramphénicol, au Triméthoprime, à la Rifampicine, à l'érythromycine ou au ammonium quaternaire
 - **les transposons composites** : sont des structures plus importantes (quelque milliers de pb), dans les quelles un ou plusieurs gènes (tel que des gènes codent pour la résistance aux antibiotiques (Euzéby,2000)



Figure N° 03 : Nucléotides dans les cellules en croissance (Prescott et Klein, 2003)

6- Source et mode de transmission

Les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent être transmises par contact cutané avec des objets ou des surfaces contaminées par l'environnement (Janda et Abbot , 2006), le matériel médical (Podschun et Ullmann ,1998), et les produits sanguins. La possibilité d'une transmission fécale a également été avancée pour certains cas de bactériémie causés par *Klebsiella* (Janda et Abbot ,2006)

7-Klebsiella dans l'eau

-Les *Klebsiella spp* sont des habitants naturels des eaux, et ils peuvent se multiplier à grandes échelles dans les eaux riches en nutriments tel que les déchets des usines de pâtes, textiles et de cannes à sucre, dans les systèmes de distribution d'eau potable, les organismes peuvent se développer, ils sont facilement détectés dans les eaux usées polluées (Tony et HartPall, 1999),

-Les *Klebsiella spp* ne sont pas considérés pour représenter une source de maladies gastro-intestinales dans la population générale par l'ingestion de l'eau potable, on peut détecter les *Klebsiella spp* dans l'eau de boisson généralement sous forme de biofilms (François et al, 2007).

8 - Klebsiella dans le sol

Les *klebsiella spp.* oxydent le fer, le soufre et l'ammoniaque pour obtenir de l'énergie, peuvent incorporer du CO₂ dans la matière organique. (Prescott et Klein, 2003)

Chapitre 02 :Les Antibiotiques

1-Les principaux antibiotiques dans le monde (Tableau N° 04)

Tableau N°04 : Les Principaux antibiotiques dans le monde (Toumi et Abbes, 2010).

	Dénominations communes	Spécialités pharmaceutiques
Pénicillines	-Pénicilline G -Ampicilline et dérivés - Amoxicilline -Amoxicilline + acide Clavulanique - Ticarciline - Ticarciline + acide Clavulanique - Mezlocilline - Péperacilline + Tazobactam - Oxaacilline - Cloxacilline - Mécillinam - Imipenem	Extencilline, Oracilline, Opsen, Pénicilline G, Bacampicine, Penglope, Pénicilline, ProampiSuvipen, Totapen Agram, Amodex, Amophar , BactoxBristamox, Clamoxyle, Flemoxine, GramidilHiconcil, Zamocilline Augmentin, Ciblor TicarpenClaventin BaypenPiperillineTazocilline BristopenOrbénineSélexideTiéname
Céphalosporines	-Céfalotine - Céfapirine	-Céfalotine ,kéflin Céfaloject

-Céfadroxil	Oracéfal
-Céfalexine	
-Céfazoline	Céporixine ,kéforal
-Céfaclor	Céfacidal ,Céfazoline, kefzol
-Céfamandole	Alfatil
-Céfuroxime	Kéfandol
-Céfoxitine	Curoxime
-Céfoxitine	Méfoxine
-Céfotiam	Pansporine
-Céfotitan	Apacef
-Céfotaxime	Claforan
-Cefménoxime	Cumix
-Céftizoxime	Céfizox
-Ceftraxone	Rocéphine
-Céfopérazone	Céfodise
-Ceftazidime	Fortum
-Cefsulodine	Pyocéfal
-Latamoxef	Moxalactam
-Céfixime	Oroken
-Ceforoxime-axetil	Zinnat,cépazine
-Cefpodoxime	Cefodox ,Orelox

Monobactame	Aztréonam	Azactam
Aminosides	-Streptomycine - Spectinomycine -Kanamycine - Néomycine -Tobramycine -Dubékacine -Amékacine - Isépamicine -Gentamicine -Nétilmicine	-Streptomycine -Terobicine -Kamycine - Néomycine, Framycétine -Nebcine, Tobrax - Débécasyll - Amiklin - Isépalline - Gentalline -Nétromicine
Phénicoles	Chloramphénicol	Cébénicol
Tétracyclines	-Tétracyclines - Oxytétracyclines -Doxycycline -Minocycline	Posicycline, terramycine -Doxycycline, Doxygrame , Monocline ,Spanor Vibramycine, Vibravineuse Mestacine, Mynocine
Macrolides	Erythromycine Azithromycine Spéramycine Gosamycine Médécamycine Lincomycine Clindamycine Virginamycine Pristinamycine	Abboticine , Erythrocline , Erythrograme , Eryfluid , Propiocine , Erycocci , Erythrogel , logécine Zitromax Rovamycine Josacine Mosil Lincocine Dalacine Staphylomycine Pyostacine

Polypéptide	Bacitracine Polymyxine B Colistine	Bacitracine Polymyxine B Colymycine
Sulfamides et associations	Sulfamides Triméthoprime Triméthoprime+Sulfamides	Adiazine ,Antébor, Exoseptoplix , Rufol , Salazopyrine Wellcoprim Antrima, Bactrim, Eusaprim
Nitrofuranes	Furanes	Ambatrol, Antinal,Ercéfuryl,Furadantine, Furadoine, Microdoine
Quinolones	Acide nalixidique Acide oxolinique Fluméquine Acide pipémidique Péloxacine Ofloxacine Norfloxacine Ciprofloxacine Sparfloxacine	Négram Urotrate Apurone Pipram Piflacine Noroxine, Exocine Oflocet, Chibroxine Ciflox Zagam
Divers	Rifampicine Acide fucidique Métronidazole Tinidazole Ornidazole Nitroxoline Fosfomycine Vancomycine Teicoplanine	Rifadine, Rimactan Fucidine, Fucithalmic Flagyle, Métronidazole Facigyne Rozagel,Tibérale Nibiole Fosfocine, Monuril, Uridoz Vancocine, Vancomycine Targocide

2-Les principaux antibiotiques en Algérie : (Toumi et Abbes, 2010).

1-les β lactamines

-**Peni G** Geetapenpenicillines G « Penicillines »

BenzathinePeniRetarpen « Extencilline » BenethaminePeniBicnocilline-

ProcainePeniBipinicilline Phenoxy méthylePeni (Peni V) Oспен « Oracilline »,

« Oxacilline », « Penicimex » Oxacilline Bristopen « Oxaline » « Oxacilline »,

« Oxal », « Oxapen », « Oksen ». -IsoxazolylPeniCloxacilline, Dicloxacilline,

Flucloxacilline.

-Ampicillines Totapen « Penicilline »

« Ampilline » « Pamecil » « Gabomicina », « Ampicilline » .

-Amoxicilline plus Acide Clavulinique, Augmontin « Klavox » « Amoclan ».

« Claventine » Ampicilline plus SulbactamUnacin .

-Metampicilline, Metacilline, Bacampicilline, Ticarcilline,Carbenicilline .

Mezlocilline, Azlociline, PiperillineMecillinam .

-Céfazoline, Cefazidal « Cefazoline » « Zepilen » -Cefalotine .

-CefaclorTabiclor « Dicef ».

-CefalexineCefact , «Cephadar » « Cefacet » « Ospexin »

.« Cephalax »/« Keforale »« Cefalex » -CefradineZeepraCefaloridine, Cefecitrile ,

Cefapirine, Cefadroxil -

CefoxitineCephamyneCefuroximeZinnatCefamandole, Cefotiam, Cefotetane

-Cefotaxime , Cloforan

-Cefixime, Oroken

-Cefmenoxime, Ceftazidime, Ceftizoxime, Cefpim, Cefpirome,Cefuslodine Cefoperazome

-Imipenem, MeropenemAztreonam

2-Les Aminositides

Clarythromycine, Ziclar

Roxithromycine , Roxide « Roxamed »

Azithromicine, Zitromax « Binozyt »

-Erythromicine, Ery « Erybesan » « Erycocci » « Erythromil » « Erythrodar »

-Spiramycine, Rovamycine « Speramycine »

-Josamycine, JosacineMedicamycine, OlaedomycineLincomycine, Lincosine« Lincohem »

-Clindamycine

-

Pristinamycine, Pyostacine Virginamycine

3-Les Phénicoles Thiamphenicole, Thiophenicole Hemisuccinate de chloramphenol

4-Les Tétracyclines Oxatetracycline, Oxymed Daxycycline, Dotur « Vibramycine », « Doxycycline », « Zadorin »

-Metacyclines, Minocycline, Tétracycline

5-Les Sulfamides Sulfamethoxazole + Trimethropimes ; Bactrim

« Primaazol » « Cortimazole »

-Eusaprim

6-Les Quinolones

-Acide pipemidique, Acide nalidique, Acide oxalinique, Fulmiquine Norfloxacin, Urobacid, Ciprofloxacin, Ciprolon « Ciprodar »

-Ofloxacin, Oflocet

Pefloxacin, Levofloxacin, Enoxacin Sparfloxacin

3 -Les principaux antibiotiques dans l'hôpital « Boukentoucha el Maki » Chelghoum Laid (2012) (Tableau N°: 05)

Tableau N°05 : Les principaux antibiotiques dans l'hôpital « Boukentoucha el Maki » de Chelghoum Laid (2012) utilisées pour le test antibiogramme

L'antibiotique	Abréviation	Charge de disque
-Ceftriaxone	CRO	30 µg
-Céfazoline	CZ	30 µg
-Céfaxotine	FOX	30 µg
-Levofloxacines	LVX	15 µg
-Erythromycines	E	15 µg
-Pipéracilline	PIP	75 µg
-Céfaxotine	CF	30 µg
-Chloramphénicol	C	30 µg
-Ac.Clavulanique	AMC	10 µg
-Céfotaxime	CTX	30 µg
-Ticarcilline	TCC	75 µg
-Ticarcilline (en IV)	TIC	75 µg
-Vancomycine	VA	30 µg
-Amicacine	AN	30 µg
-Imépinéme	IPM	10 µg
-Tobramycine	TM	10 µg

4-Mode d'action des antibiotiques (Tableau N° 06 , Figure N° 04 , 05)

La première phase d'action des antibiotiques est leur mise au contact avec les bactéries ciblées dont ils doivent perturber une voie métabolique vitale qui constitue leur site d'action qui engendre l'inhibition de leur croissance ou provoque leur mort, leur structure et fonction bactériennes les plus communément ciblées sont la paroi cellulaire , la membrane cytoplasmique, les métabolites de la synthèse de protéines et des acides nucléiques (Boussboua, 2002)

-On distingue en effet des antibiotiques inhibiteurs 20% pour la synthèse d'acide nucléique ;50% pour la synthèse de protéine, 10% pour la synthèse de peptidoglycane et

20% pour d'autres fonctions métaboliques en particulier le transfert d'ions à travers la membrane plasmique (Van Gansen et Alexander, 2004)

4-1 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

Ils sont bactéricides en bloquant la formation de ponts entre les chaînes de peptidoglycane au sein de la paroi cellulaire des bactéries en cours de division comme pénicilline, céphalosporines, autres β lactamines, vancomycines et téicoplanines

4-2 Inhibition de la synthèse des protéines

Il agissent sur le ribosome 30 S ou 50 S bactérien, seuls les aminosides sont bactéricides ; ceux qui fixent sur la sous-unité 30 du ribosome bactérien Aminoside, Tétracycline, ceux qui se fixent sur la sous-unité 60 S, Macrolides, Streptogramines, Chloromphénole, Acide fusidique (Toumi et Abbes, 2010)

4-3 Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

Les rifamycines bloquent la transcription de l'ADN en ARNm par l'inhibition de l'ARN polymérase, les quinolones se fixent sur le complément (ADN-ADN gyrase), empêchent la réplication et la transcription de l'ADN bactérien, les nitrofuranes agissent par perturbation de la réplication de l'ADN, les novobixines agissent en inhibant la réplication de l'ADN, le métranasole inhibe la synthèse des acides nucléiques par inhibition de la synthèse de folates, cofacteur nécessaire pour la synthèse des bases puriques et pyrimidiques (Boulehbal, 2009).

4-4 Inhibition de la membrane cytoplasmique

Les antibiotiques agissant à ce niveau sont les polymyxines, la nistatine, l'imidazole et l'amphotéricine, ils désorganisent les fonctions normales de la membrane cytoplasmique, en altérant sa structure par la formation de pores et par la dérégulation du transport des ions et d'autres substrats (Boussboua 2002).

Tableau N°06 : Les différentes familles des antibiotiques et leurs mode d'action chez *Klebsiella spp.* (Toumi et Abbas, 2010)

Familles	Mode d'action
Les β lactamines	Se fixent sur les membranes au niveau des protéines PLP
Les aminosides	Ils agissent en perturbant la synthèse des protéines au niveau des ribosomes
Les tétracyclines	Ils inhibent la synthèse de protéines au niveau des ribosomes
Les polypeptides	Ils agissent sur la membrane externe de la paroi puis sur la membrane cytoplasmique
Les quinolones	Elles agissent en bloquant la synthèse de l'ADN



Figure N° 04 : Avant le traitement à la pénécilline



Figure N° 05 : Lyse de la bactérie la suite d'un affaiblissement de la paroi Bactérienne imputable à la pénécilline

5- Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Tableaux N° 07)

Tableaux N° 07 : Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella spp.* (Ramdani et Al, 2009).

Antibiotique	Mécanisme de résistance	Support génétique
Bétalactamines	Bétalactamases	Chromosomique
Aminosides	Enzymes (APH, ANT, AAC)	Plasmide
Quinolones	Modification gyrase	Mutation
	impermeabilité	Plasmide
Tétracyclines	Elimination	Plasmide
	Imperméabilité	Mutation
	Inactivation enzymatique	Plasmide

6- Taxonomie de la résistance :

Klebsiella spp. Peuvent être résistante à l'action d'un ou de plusieurs antibiotiques, on parle alors dans ce dernier cas de résistance croisée ou multiple

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (**résistance naturelle**) ou devenir inefficaces contre des bactéries au préalable sensibles à l'antibiotique (**résistance acquise**)

- **6-1 Résistance naturelle :**

Klebsiella spp. Montre spontanément résistance vis-à-vis de pénicillines, (comme l'ammoxicilline)

- **6-2 Résistance acquise :**

Klebsiella spp. Est sensible dans un premier temps à un antibiotique donné, au bout d'un certain temps devient résistante à des céphalosporines C3G et l'acide clavulanique, (Brezelle et Baurdy, 2006).

7- Les gènes qui codent la résistance des antibiotiques et leur localisation (Tableaux N°08)

Les gènes codés par les plasmides conjugatifs confèrent diverses propriétés biologiques aux bactéries, résistance aux métaux lourds, résistance aux bactériophage, acquisition de facteur de pathogénicité , acquisition des nouvelles propriétés métabolique , synthèse de bactériocines ,etc.

Les plasmides conjugatifs (est les portés par ces plasmides) peuvent se transmettre entre bactéries d'une même espèce , mais aussi entre bactéries d'espèces différentes (Euzéby. 2002) (Site web : liste of prokaryotic names with standing in nomenclature)

- **Le gène qac (quaternary ammonium compound)** code pour la résistance aux ammonium quaternaires ,cette résistance peut être associée à la chlorhexidine (porté par un plasmide) (.Ramdani et al, 2009)

- **Le gène qnr (pour quinolone résistance)** codant pour une protiene Qnr A de 218 acides amines appartenant à la famille des protéines à motif penta peptide répété , qui est définie par la présence de répétition en tandem de cinq acides amines (ser , thr , Ala , ou Val) – (Asp ou Asn) – (Ieu ou phe) – (ser ,thr ou arg)- (gly) depuis des nouvelles variantes de Qnr , résultant de substitution en acides amines , ont été identifiées : Qnr B chez une souche de *klebsiella pneumoniae* , cela signifie que le premier déterminent plasmidique de la résistance aux quinolones (porté par un plasmide pM G 252)

La résistance des transconjugants à l'acide naldixique peut être expliquée par le transfert de gène codant qnr

- **Le gène gyr A** codant pour la résistance aux quinolones ,amikacine , norflaxocine , ciproflaxacine , ofloxacine.(djaddanaima , merabetnassira...2009-2010)

- **Gène cassette** codant pour la résistance aux béta- lactamines , aminosides , chloramphénicol , triméthoprimine ,rifampicine , à l'érythromycine ou aux ammoniums quaternaires (porté par les cassettes 250 à 1500 pb possèdent une organisation commune) (Euzéby2002)

- **Les transposons composites** sont des structures plus importantes (quelques milliers de pb) dans lesquelles un ou plusieurs gènes (tels que des gènes codant pour la résistance aux antibiotique)

Tableaux N°:08 Exemples d'éléments génétiques transposables(Djadda, Merabet ,2010)

Eléments	Taille	Résistance à
Tn 5	5700 pd	Kanamycine
Tn 9	2500 pd	Chloramphénicol
Tn 10	9300 pd	Tétracyclique
Tn 903	3100 pd	Kanamycine

8- Les enzymes résistances aux antibiotiques (TableauN°09)

Klebsiella spp. En effet équipées des plasmides, un fragment d'ADN situé en dehors des chromosomes de la bactérie qui produisent, des enzymes s'attaquant aux antibiotiques ces enzymes, les bêta – lactamase ont la capacité d'inactiver ou de détruire les molécules qui s'attaquant à la paroi des bactéries (Dr. Nkurikiyinfura et al , 2000)

TableauN°:09 Les principales enzymes résistances aux antibiotiques(Chez *Klebsiella spp.*)(Perronne, 1999) (Peterson, 2006) (Ramdani et al ..2009) (Faure,2009)

enzymes	antibiotiques	Localisation
Bétalactamase	Bétalactamines	Chromosomique
Enzymes (APH, ANT,AAC)	Amonosides	Plasmide
Penicillinase	Pénicillines, tiracilline ,pipéracilline , mezlocilline	Plasmide
Bétalactamase à spectre étendu (BLSE) , elle derivent des enzymes de type , TEM 3-29,42,43 SHV-2-9, PER-1,2 ,CTX-M, CTX- M2 , MEN-1, VEB-1, TOHO-1	Pénicillines,Céphalosporines de 1 ,2 et 3 génération monobactamines	Plasmide
Céphalosporinases (Ampc)	Céphalosporines, Bétalactamines	Plasmide

Enzymes (ACC- 1)	Aminopénicilline , uréidopénicillines , carboxypénicillines ,Céphalosporines de 1 ,2 et 3 génération céphamycines	
------------------	---	--

09- Les inhibiteurs d'enzymes

Les principales molécules des inhibiteurs de b- lactamases sont l'acide clavulanique le sulbactam et le tazobactam, l'acide clavulanique inhibe seulement des pénicillinases alors que le tazobactam et le sulbactam peuvent inhiber les pénicillinases mais sur les Céphalosporinases (Tortora et al ...2003) , l'ampicilline et ses dérivés (comme l'amoxicilline) combinent résistance à certaines b- lactamases et activité accrue contre les bactéries gram-(Singleton , 2005)

PARTIE :02

RECHERCHE EXPERIMENTALE

Recherche expérimentale

Cette étude consiste en la recherche isolement et identification des souches de *Klebsiella spp.* a partir de différents produits pathogènes (urines ,pus ,ponctions, etc.),provenant de malades hospitalisés et autres non hospitalisés ,dans les différents services des hôpitaux de Chelghoum el Aïd «Boukentoucha el Maki » et de Mila « les sept frères Meghlawi »

1-matériel et méthodes

1-1- Matériel et produit (Tableau N°10), (Figure N° 06)

Tableau N°10 : Matériel et produits

Matériel	Produits
-Boites de pétrie	-Bleu de méthylène
-Lames et lamelles	-Eau physiologique
-Pipettes Pasteurs	-Milieu Hecktoen
-Tubes à essais	-Violet de gentiane
-Microscope optique	-Lugol
-Bec benzène	-Alcool
-Etuve d'incubation (BINDER)	-Fushine
-Anse de Platine	-Mannitol-Mobilité
	-Citrate de Simmons
	-TSI (glucose, lactose, saccharose, H ₂ S)
	-Bouillon Clarks et Lubs



Figure N° 06 : le matériel d'étude

1-2 Méthodes

1-2-1 Isolement (Tableau N° 11 ,12) (Photo 01) (Figure 07)

L'isolement est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactériennes pures a partir d'un échantillon

Tableau N° 11 : Les souches isolée dans l'hôpital « les sept frères Meghlawi » de Mila chez des malades non hospitalisés

Le sexe	Type d'infection	L'âge de malade	La date
Femme	Infection urinaire	47 ans	08-08-2011
Homme	Infection urinaire	5 mois	08-11-2011
Femme	Infection urinaire	61ans	12-11-2011

Tableau N° 12 : Les souches isolées dans l'hôpital «Boukentuhcha el Maki »Chelghoum l'Aïd chez un malade hospitalisé

Le sexe	Type d'infection	L'âge de malade	La date
Femme	Infection urinaire	29 ans	15-08-2011

-Dans une tube contenant 5 ml d'eau distillée on met 2 gouttes d'urine à l'aide d'une pipette Pasteur

-Après on prend une goutte et on met dans une boîte qui contient un milieu Hecktoen

-Effectuer des stries par une pipette Pasteur, par la méthode d'ensemencement comme la figure suivant



Photo N° 01: L'ensemencement par la méthode de stries dans l'hôpital « Boukentuhcha el Meki » Chelghoum l'Aïd

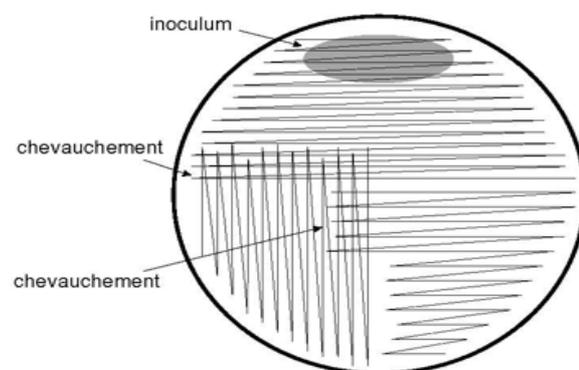


Figure N° 07 : étalement sur une boîte par la technique des stries (Prescott et Al 2003)

-Incuber la boîte dans une étuve ,24 heures a 37 C°

-Après 24 heures

Si les colonies sont plus que 100, la culture est positive

Si les colonies sont moins que 100, la culture est négative

1-2-2 Identification

- **Identification macroscopique**

Avec l'œil nue les colonies de *klebsiellaspp.* Sont de grand taille, muqueuse et comme une goutte de miel (Guiraud 2007), est sans odeur

- **Identification microscopique**

L'examen a l'état frais

L'état frais est une technique qui permet l'observation des bactéries vivantes entre lame et lamelle a l'objectif 40, le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi le type de mobilité (Joffinetyral ,2006)

L'observation est réalisée comme suite

-Déposer une petite goutte d'eau physiologique sur une lame a l'aide d'une pipette Pasteur

-Prélever une partie d'une colonie bactérienne pure avec l'anse de Platine et dissociée la goutte sur la lame

-Appliquée une lamelle stérile sur la goutte en évitant la formation des bulles d'aire puis l'observation au microscope optique a l'objectif 40

1-3 le Gram

Le protocole de Gram est réalisé selon les étapes suivantes

-Entre lame et lame et lamelle on met une goutte d'urine avec une goutte d'eau distillée et bien mélangé

-Sécher par un bec benzène

- Après commencer la coloration par les étapes suivantes
- Mettre le violé de Gentiane 2 minutes puis laver
- Mettre le Lugol une minute puis laver
- Mettre l'Alcool 45 second puis laver
- Mettre le Fushine 2 minute puis laver
- laisser sécher
- observer au microscope
- Les cellules an violet sont des Gram+
- Les cellules en rouge ou rose sont des Gram-

1- 4 Identification biochimique (Tableau N° 13) (Figure N° 08)

L'identification biochimique est conduite par les étapes suivantes

- Dans un tube contient 5 ml d'eau physiologique stérile on met une goutte de solution d'urine
- Ensemencer les tubes à partir de la préparation
- Incuber les tubes de galerie dans l'étuve 24 heures à 37C°

Tableau N° :13 Identification biochimique (Prescott et Klein, 2003)

Les milieux	La méthode	Résultat
TSI	-ensemencement et piqure directement au centre	-pente jaune fermentation du lactose et saccharose -culot jaune fermentation du glucose
Citrate de Simmons	- ensemencement	-coloration bleu de milieu et croissance sur la pente utilisation de citrate
Mannitol-Mobilité	- ensemencement	-si il y'a des stries la bactérie est mobile -si non la bactérie est immobile
Indole	- ensemencement	Annaux rouge à la surface après ajouter le réactif de KOVACS -production d'indole
L'urée-indole	- ensemencement	Couleur rouge -présence d'une uréase
RM-VP	- ensemencement après 24 heure en sépare le milieu en 2, le premier en ajout le RM et le deuxième on ajout le VP	VP+ couleur rouge, cerise après ajout des réactifs VPI et VPII respectivement -RM+ couleur rose après ajout de réactif RM

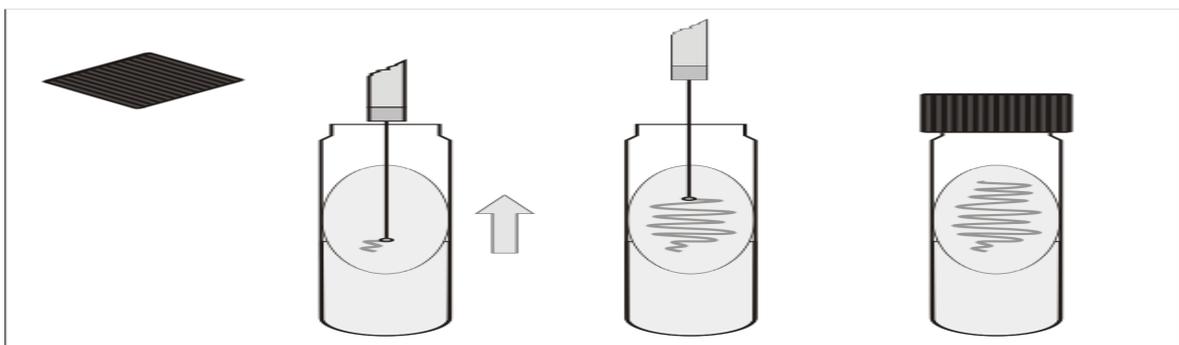


Figure N° 08 : les méthodes d'ensemencement (Podschun et Ullman, 1998)

- **Recherche de l'oxydase :**

L'activité oxydase a été déterminée par la méthode des disques et selon le protocole d'écrit par (Guenome, 2009)

A l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, une colonie est déposée sur un disque oxydase placé sur un milieu solide, la réaction positive est révélée par l'apparition d'une tache violet

- **Recherche de catalase :**

Cette activité à été réalisée selon le protocole expérimentale d'écrit par Prescott et Al,(2003)

Ce test consiste à mettre une colonie prélevée du milieu gélosé à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée dans l'eau oxygénée

3- Antibiogramme :

L'antibiogramme est la méthode analytique qui permet de définir in vitro la concentration minimale inhibitrice (CMI), et détermine la résistance d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotique, qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37C° cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique

➤ **Principe :**

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic, des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester , sont déposés à l'aide d'une pincettes stériles à la surface d'un Muller – Hinton .

- On met une goutte de l'urée dans 5 ml de l'eau distillé
- On prend une goutte de solution précédente et en met dans l'eau physiologique.
- Dans la boîte de pétrie qui contient MH on met la solution
- Les disques, on les incubée dans l'étuve 24 heures en 37C° (Boulaïbal et al, 2009)

➤ **Recherche de B-lactamase à spectre élargie:**

La recherche de bêta-lactamase à spectre élargie se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline + acide clavulanique (TCC) à 30mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération céftazidine (CAZ), le test est positif s'il ya apparition d'une image de synergie ou « bouchon de champagne », entre les disque trarcilline + acide clavulanique et la kétazidine .

Résultat et discussion

1-Isolement :

Après incubation dans l'étude à 24 heures a 37 C° , on a observer la boîte par contour des colonies ; et on a trouve que les colonies sont plus de 100 , donc la culture est positif

2-Identification :(Photo N°02, 03, 04, 05, 06) (Tableau N°14) (figure N° 09)

2-1 – Macroscopique :

L'observation macroscopique montre des colonies rondes de 3 a 4 mm de diamètre, bombées et muqueuse rassemblant a des gouttes de miel et sans odeur.



Photo N°02 : *klebsiella oxytoca* en milieu Muller Hinton dans l'hôpital « Boukentoucha el Meki » Chelghoum laid

2-2 Microscopique :

- **Sans coloration :**

Les colonies sont de forme :

- Bacille
- Immobile

- **Avec coloration :**

Avec le bleu de méthylène, les souches sont petit taille, bacilles et se regroupe soit par pair, soit par chainettes formant en général, des colonies grasses (présence d'une capsule), immobile et non flagellée.

2-3 Coloration de Gram :

Les colonies qui on a observer après la coloration par le microscope 100 , sont on couleur rose , donc les souches sont de Gram-



Photo N° 03 : *Klebsiella oxytoca* après la coloration de Gram dans l'hôpital « Boukentoucha el Meki » Chelghoum laid

2-4 Résultat de galerie biochimique :

Tableau N°14 : Résultat des galeries biochimique

Le milieu	Résultat
TSI	Pente jaune, culot jaune donc les souches fermentent le lactose, saccharose et glucose
Citrate de Simmons	L'apparition de couleur bleu, donc les souches utilise le citrate
Mannitol - mobilité	Aucun changement, donc les souches est immobile
Indole	Annaux rouges, donc les souches produit l'indole
L'urée – Indole	Apparition de la couleur rouge, donc présence d'une uréase
Clark and Lubs	- Milieu 01 : rouge – VP+ Donc les souches produit le butanodiol - Milieu 02 : jaune – RM-

❖ Ces résultats signifié que cette souche est : *Klebsiella oxytoca*



Photo N° 04 : le test de TSI **Photo N° 05 :** le test de VP
dans l'hôpital « Boukentoucha el Meki » Chelghoum laid

- **Résultat d'oxydase**

La zone réactionnelle sur le disque oxydase est incolore = oxydase négatif

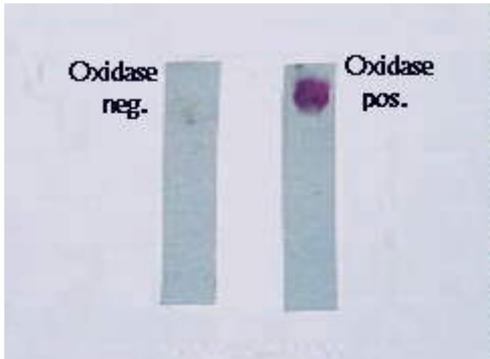


figure N° 09 : Résultat de texte oxydase

- **Résultat de catalase**

Le dégagement de bulles de gaz signifie qu'il ya production de l'enzyme catalase et que le test est positif

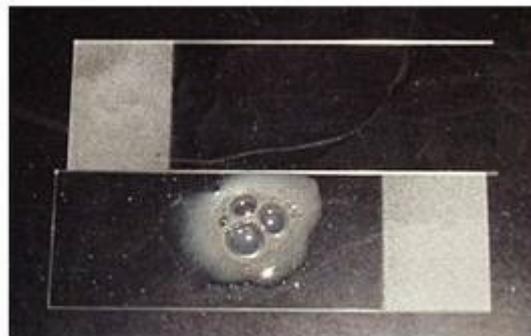


Photo N° 06 : Résultat du test catalase dans l'hôpital « Boukentoucha el Meki »
Chelghoum laid

3-Antibiogramme :(Tableau N° 15, 16) (photo N ° 07 , 08 , 09)

Après incubation, les disques s'entourent des zones d'inhibition circulaire correspondant à une absence de culture, lorsque la technique est parfaitement standardisée la diamètre du zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe la lecture de l'antibiogramme consiste a déduire a partir de la mesure de ses diamètre

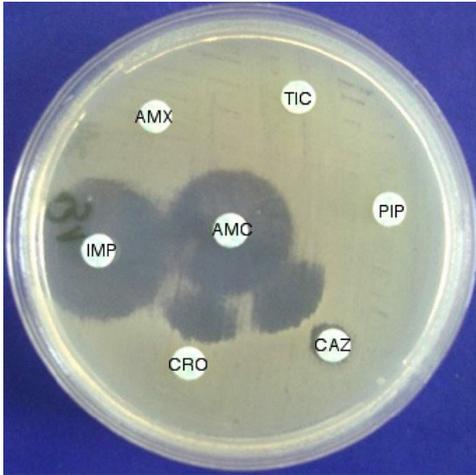


Photo N° 07 : le résultat des antibiogrammes

Photo N° 08 : Méthode de mesure les diamètres des antibiotiques

Tableau N°15 : résultat de résistance et sensibilité de *Klebsiella oxytoca*

dans l'hôpital « Boukentoucha el Meki » Chelghoum laid 2012

Antibiotiques	Abréviation	Résultat	
Amoxicilline	AMX	R	10mm
Acide clavulanique	AMC	R	10mm
Ampicilline	A	R	10mm
Céfazolline	CZ	R	6mm
Nitroxoline	NI	R	6mm
Céfotaxine	CTX	R	6mm
Imipénème	IPM	S	27mm
gentamicine	GM.GEN	I	17mm

- La souche de *Klebsiella spp.* a présenté un profil BLSE qui se traduit sur l'antibiogramme par un bouchon de champagne (test de synergie), due à l'inhibition d'une céphalosporine de troisième génération (C3G), (CAZ) par l'acide clavulanique (Université mentouri constantine, 2009)



Photo N ° 09 : Profils de BLSE « bouchon de champagne »

3 - L'historique des Antibiotiques entre (2009 – 2012)**Tableau N° : 16** L'historique des Antibiotiques en 2009
dans l'hôpital « sept frères Meghelawi » Mila.

Les souches	Date d'isolement	Les antibiotiques									
		AMC	CZ	CS	NA	K	NO	CTX	GEM	AM	CP
K 1	12/10/2009	-	R	-	S	-	-	-	S	-	-
K 2	21/10/2009	R	R	-	I	S	-	-	-	R	-
K 3	29/10/2009	-	S	-	-	S	-	R	-	-	R
K 4	12/11/2009	-	-	R	R	-	-	-	S	R	-
K 5	20/11/2009	-	R	-	S	-	-	S	-	-	-
K 6	27/11/2009	-	-	-	S	S	S	-	S	-	-
K 7	09/12/2009	-	R	-	R	S	R	-	S	-	-
K 8	29/12/2009	-	I	-	S	S	-	-	S	R	-
K 9	29/12/2009	-	S	-	S	-	-	-	R	R	-

Tableau N° : 17 L'historique des Antibiotiques en 2010

Dans l'hôpital « sept frères Meghelawi » Mila

Les souches	Date d'isolement	Les antibiotiques									
		AMC	CZ	CS	NA	K	NO	CTX	GEM	AM	CP
K 1	17/10/2010	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R
K 2	07/11/2010	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R
K 3	08/11/2010	R	R	R	R	S	R	I	S	R	R
K 4	09/11/2010	R	R	R	-	R	S	S	R	R	-
K 5	12/11/2012	R	R	R	-	-	I	R	R	R	-
K 6	01/12/2010	R	R	R	-	-	I	R	-	S	R
K 7	14/12/2010	R	R	R	-	-	-	S	-	R	R

Tableau N° : 18L'historique des Antibiotiques en 2011

dans l'hôpital « sept frères Meghelawi » Mila

Les souches	Date d'isolement	Les antibiotiques									
		AMC	CZ	CS	NA	K	NO	CTX	GEM	AM	CP
K 1	10/01/2011	R	I	R	R	S	R	S	R	R	R
K 2	06/04/2011	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R
K 3	12/11/2011	R	S	R	-	S	R	-	S	R	R
K 4	14/11/2012	R	S	-	-	S	R	-	S	R	R

Tableau N° : 19L'historique des Antibiotiques en 2012

dans l'hôpital « sept frères Meghelawi » Mila

Les souches	Date d'isolement	Les antibiotiques									
		AMC	CZ	CS	NA	K	NO	CTX	GEM	AM	CP
K 1	13/02/2012	R	S	R	S	S	R	S	S	R	S
K 2	19/02/2012	R	I	R	S	S	-	S	I	R	S
K 3	19/02/2012	R	S	-	-	-	-	S	R	R	-
K 4	28/02/2012	S	R	-	-	-	-	S	-	R	-
K 5	04/03/2012	R	R	-	-	-	-	R	-	-	-
K 6	15/03/2012	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-
K 7	20/03/2012	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 8	01/04/2012	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau N° 20 : Le Pourcentage de la résistance des différents antibiotiques

Les antibiotiques										
Année	AMC	CZ	CS	NA	K	NO	CTX	GEM	AM	CP
2009	100 %	62.5 %	100 %	22.2%	0%	50%	50%	16%	100 %	100 %
2010	100 %	100 %	100 %	75%	25%	50%	42.8%	33%	84%	100 %
2011	100 %	57.5%	100 %	100 %	0%	100 %	0%	25%	100 %	100 %
2012	87.5%	50%	100 %	0%	0%	100 %	20%	33.3%	100 %	0%

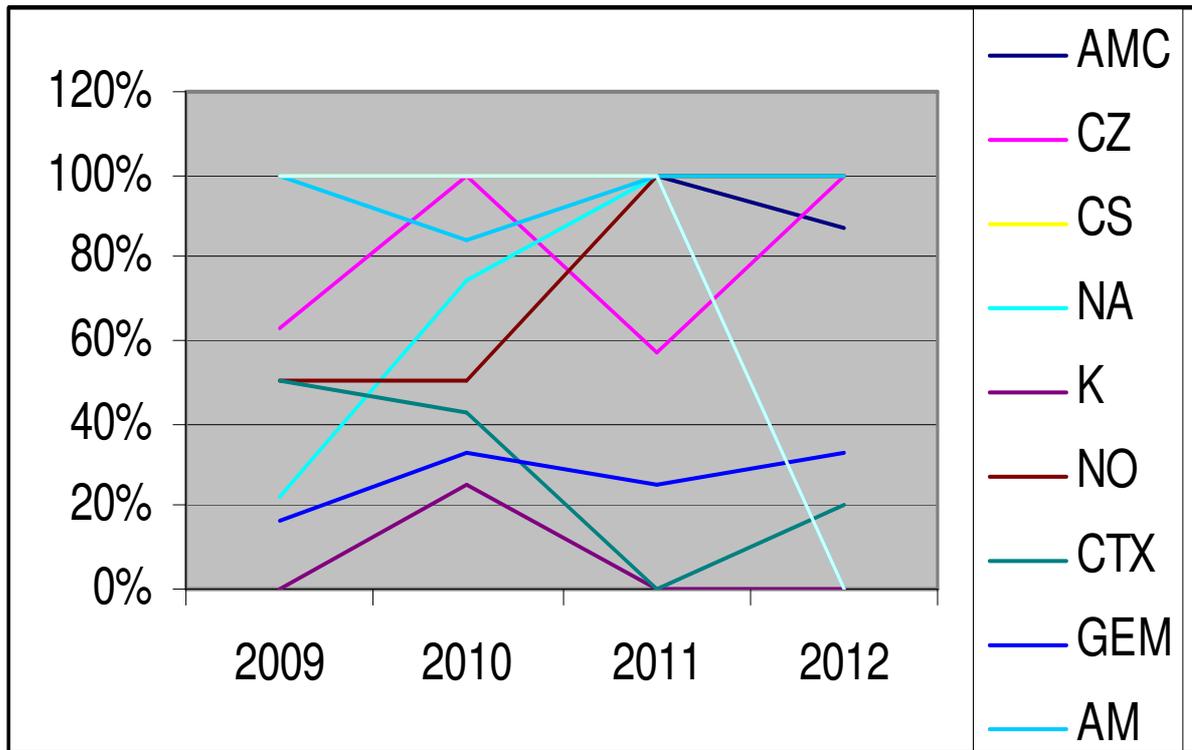


Diagramme N° 01 : Changement de la résistance de *Klebsilla spp.* Aux quelques antibiotiques 2009 à 2012

CONCLUSION

L'étude dans l'hôpital « Boukentochoa el mekki » Chelghoum laid et l'hôpital de Mila « les sept frères Meghlawi » montre qu'il y'a plusieurs infections (nosocomiale , urinaire , respiratoire, etc.) , causées par des différents bactéries , parmi ces bactérie le genre *Klebsiella*, qui est isolée dans des différents milieux(urines, pus, ponction, hémoculture ,etc.)

L'étude dans les moins de février et mars des 3 souches de *Klebsiella spp* montre que la résistance et la sensibilité de ce genre aux antibiotiques est ne pas stable

Les résultats des antibiogrammes sont montrés que les 3 souches sont sensibles à Céfotaxime (CTX). Donc la sensibilité de *Klebsiella spp* .à Céfotaxime (CTX) est 100 %. Pour Céfazoline (CZ) les souches 1 et 3 sont sensibles. Par contre la souche 2 est intermédiaire. Quant à la Gentamicine (GM), les souches 1 et 2 sont sensibles, mais la souche 3 est résistante. Pour Amoxicilline (AMC) et Ampicilline (AM) les 3 souches sont résistantes. Donc *Klebsiella spp*.est résistante à Amoxicilline et Ampicilline (AMC et AM) 100%.

Donc l'efficacité des antibiotiques aux *Klebsiella spp*. Est instable avec le temps.

Klebsiella spp. Présente un grand problème dans le monde par ces infections, leur pourcentage à l'ensemble des infections environ 30% ; elle est parfois acquises en milieu hospitalisée et parfois non hospitalisée.

La prévention de ce germe et basée essentiellement, sur la sensibilisation à ce problème et la conscience des personnes soignants, sur les structures des hôpitaux et leur architectures doivent avoir des surfaces souples et faciles à nettoyés : sur les mesure de nettoyage et la bon pratique des actes médicaux.

Bibliographie

B

1. Bakli Sabrina, activité antibactérienne des fractions chromatographiques des extraits phénoliques de pistacia lentiscus, 163 p
2. Berthet, Dictionnaire de biologie, 2006
3. Bousseboua H, Eléments de microbiologie, université mentouri constantine , 2002 , p 167, 171
4. Boulahbal F, Ramdani N, Bouguessa M, Seghies R, Belouni A , Bensliinmani , manuel de microbiologie office de publication , Universitaire de Alger, 2009, 277 p
5. Bousseboua H, éléments de microbiologie université mentouri, constantine , 2002, p 167, 171
6. Borir ouafa et Ghilani malika, le profile de la résistance aux B- lactamines des souches de P.aeruginase, d'origine hospitalière, Biskra, 2011, 56p
7. Brezellec H, baudry C, microbiologie – immunologie, France, 60p

C

8. Carbonnelle B, Denis F, Marmonier A, Pinon G, Vargues R, bactériologie médicale, techniques usuelles, France ,1987
9. Cavaret, T, Briffaud , M, Klebsiella. pneumoniae en aviculture fréquence d'isolement, sensibilité aux antibiotiques, laboratoire resalab, challons, 2009
10. Contribution à l'étude du portage digestif de Gram⁻, résistantes aux Céphalosporines de 3^{ème} génération au niveau de l'hôpital d'amizour

D

11. Davidson AM, Gunning AD, Swailson CP, turner N, infections des voies urinaire inférieure, Maloine , p458,459
12. Djadda Naima, Merabet Nassira, contribution à l'étude de la résistance aux quinolones des souches d'entérobactéries isolées en médecine de ville 2010
13. Djelouat Salim, Bactériology, 2009

E

14. Euzéby J.P, abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de l'école nationale, vétérinaire de Toulouse, bactériologie générale, bactériologie médicale

F

15. Faure S, transfert d'un gène de résistance aux B- lactamines la CTX-M-9 entre salmonella et les entérobactérie de la flore intestinale humaine , impact d'une antibiothérapie , universitaire de rennes thèse de doctorat , 2009 , 190 p
16. François Denis , Marie , Cécileploy , Kristian martin , Bingen , Quentin , bactériologie médicale , 2007
17. François Denis , Cécileploy, Martin , Bingen , Quentin , bactériologie médicinal et infectieuse , 2007, 413p
18. François denis , Kritian martin , Edward bingen , Quentin roland , bactériologie medical , 2007

G

19. Guidelines for drinking water quality , volume 1 genera , 2004, 486 p
20. Guenome S, biodégradation de monochlorophénols par le microbiote tellurique de la plaine d'E1 Harrouch, Université mentouri constantine ,2009, 29p
21. Guidline for drinking water , quality , 2004, 486 p

J

22. Janda JM , Abbot SL, the genre Klebsiella and Routella , the enterobacteria , washington (USA) , 2006, p 115, 129
23. Jerom j, Perry james T,Staly , Stephen , microbiologie , paris , France , dunod, 2004, 891p
24. Joseph – Pierre , Guiraud , microbiologie alimentaire , paris , 1998, 652 p

M

25. Madigan , Martinko ,biologie des microorganismes , paris, France , pearson , 2007 ,
1047 p

N

26. Nicklin J, Graeme K – cook, paget T et Killington R, L'essentiel en microbiologie,
Bert, 2000, 73p
27. Nkurikiyinfura ,Bayingana , Twagirumukiza , service de bactériologie du
laboratoire , universitaire de butare , 2000

P

28. Paul Singleton, bactériologie, Dunod , 2005 , 542 p
29. Perrone C, maladies infectieuses, cedex, 1999, 406 p
30. Peterson DL , résistance in Gram⁻ bactériennes entérobactériaceae , the american
journal of medicine , 2006, p 119,520,528
31. Pierre Joseph et Marie Curie, anonyme (2003) bactériologie, université PARIS-VI,
Faculté de médecine pitié-salpêtrière , 2003,122 p
32. Podschun R et Ullman, Klebsiella spp as a nosocomiale pathogènes , epidemiologie
, taxonomie typing methodes and pathogenicity factors , by ,: clinical microbiologie
reviews, 1998, p 589, 603
33. Prescott LM, Harley, Klein, microbiologie, française, 1133p
34. Prescott LM, Harley, Klein, microbiologie de boeck, bruxelles, 2003, 1163p
35. Prescott LM, Harley, Klein, microbiologie de boeck, bruxelles, 2003, 1137 p

R

36. Ramdani bouguessa, Seghier M, Belouni R, Benslimani A, manuel de
microbiologie, Alger 2009, 277p

T

37. The prokaryote, a hand book of the biologie of bacteria. gamma subclass, 2006,
1133p
38. Toumi, Abbas, les infections nosocomiales bactériennes et l'antibiorésistance,
option biochimie, université Mohamed khider biskra, 2010, 111p
39. Tony Hart, Paul Shfars , Atlas de poche de microbiologie , 1999, 313 p

40. Tortora GJ, brdell BF, christine L C, introduction à la microbiologie, Canada , 2003 , 945 p .



41. Universitaire de constantine , Algerie , Caractérisation phenotypique et genotypique de souches de Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae isolees a l'hopital , 2009



42. Van Gasen P, Alexandes H, biologie générale Dunod paris, 2004, 78p

43. WWW.Vulgaris-medicale com/encyclopedie/ klebsiella.

44. Site web:liste of prokaryotic names with standing in nomenclature.

Résumer

Les résultats des antibiogrammes sont montrés que les 3 souches sont sensibles à Céfotaxime (CTX). Donc la sensibilité de *Klebsiella spp.* à Céfotaxime (CTX) est 100 %. Pour le Céfazoline (CZ) les souches 1 et 3 sont sensibles. Par contre la souche 2 est intermédiaire. pour la Gentamicine (GM), les souches 1 et 2 sont sensibles, mais la souche 3 est résistante. Pour Amoxicilline (AMC) et Ampicilline (AM) les 3 souches sont résistantes. Donc *Klebsiella spp.* est résistante à Amoxicilline et Ampicilline (AMC et AM) 100%.

Donc l'efficacité des antibiotiques aux *Klebsiella spp.* Est instable avec le temps.

Mot clé :

Abstract

The results of antibiogram have shown that the three strains were susceptible to cefotaxime (CTX). Therefore the sensitivity of *Klebsiella spp.* To cefotaxime (CTX) is 100%. For Cefazolin (CZ) the strains 1 and 3 are sensitive. And the second strain is intermediate. For gentamicin (GM), the strains 1 and 2 are sensitive, but the strain 3 is resistant. For amoxicillin (AMC) and Ampicillin (AM) the three strains are resistant. Therefore resistant of *Klebsiella spp.* to Amoxicillin and Ampicillin (AMC and AM) is 100%.

-So the effectiveness of antibiotics for *Klebsiella spp.* Is unstable over time.

الملخص

النتائج المتحصل عليها من اقراص المضادات الحيوية اعطت ان السلالات الثلاثة حساسة للسيفوتاكسيم اذن حساسية الكليبيلا للسيفوتاكسيم هي 100% بالنسبة للسيفازولين السلالات 1 و3 حساسة له على عكس السلالة 2 فهي وسيطية من اجل الجنتاميسين السلالات 1 و2 حساسة له لكن السلالة 3 مقاومة اما بالنسبة للاموكسيسيلين والامبيسيلين السلالات الثلاثة مقاومة له اذن الكليبيلا مقاومة للاموكسيسيلين والامبيسيلين بنسبة 100 %

اذن حساسية الكليبيلا للمضادات الحيوية غير ثابتة ومتغيرة مع الزمن.

Résumé

Les résultats des antibiogrammes ont montré que les 3 souches de *Klebsiellaspp.* sont sensibles au Céfotaxime (CTX). Donc la sensibilité de *Klebsiellaspp.* à Céfotaxime (CTX) est 100 %. Pour le Céfazoline (CZ) les souches 1 et 3 sont sensibles. Par contre la souche 2 est intermédiaire. Pour la Gentamicine (GM), les souches 1 et 2 sont sensibles, mais la souche 3 est résistante. Pour Amoxicilline (AMC) et Ampicilline (AM) les 3 souches sont résistantes. Donc *Klebsiellaspp.* est résistante à Amoxicilline et Ampicilline (AMC et AM) à 100%.

Mots clés : *Klebsiellaspp.*, antibiotique, résistance aux antibiotiques

Abstract

Antibiogram results have shown that the three strains of *Klebsiella spp.* were susceptible to cefotaxime (CTX). Therefore the sensitivity of *Klebsiella spp.* to cefotaxime (CTX) was 100%. For Cefazolin (CZ) the strains 1 and 3 were sensitive, and the second strain was intermediate. For gentamicin (GM), the strains 1 and 2 were sensitive, but the strain 3 was resistant. For amoxicillin (AMC) and Ampicillin (AM) the three strains were resistant. Therefore, the resistance of *Klebsiella spp.* to amoxicillin and ampicillin (AMC and AM) was 100%.

Key words: *Klebsiella spp.* Antibiotics, . Resistance to antibiotics

الملخص

النتائج المتحصلة عليها من اقراص المضادات الحيوية أعطت ان السلالات الثلاثة حساسة للسيفوتاكسيم اذن حساسية الكليبيلا للسيفوتاكسيم هي 100% بالنسبة للسيفازولين السلالات 1 و 3 حساسة له على عكس السلالة 2 فهي وسيطية من اجل الجنتاميسين السلالات 1 و 2 حساسة له لكن السلالة 3 مقاومة اما بالنسبة للاموكسيسيلين والامبيسيلين السلالات الثلاثة مقاومة له اذن الكليبيلا مقاومة للاموكسيسيلين والامبيسيلين بنسبة 100 %.

الكلمات المفتاحية: الكليبيلا. المضادات الحيوية ، مقاومة للمضادات الحيوية.