

N° Ref :.....

Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Etude de l'antibiorésistance de *Klebsiella spp.* à l'hôpital de Mila.

Préparé par : Asma GHERASSI
Raouia BOURAS
Nafissa BENSALAH

Soutenue devant le jury :

- **Président :** Moufida BOUCHEKRIT M.A.A
- **Examineur :** Nourelhouda RABHI M.A.B
- **Promoteur :** Abdelhafid BOUBENDIR M.C.B

Année Universitaire : 2013/2014

Remerciement

Au terme de ce travail Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant pour ce qu'il nous a tant donner comme volonté, santé et patience, pour pouvoir concrétiser tous nos efforts par ce modeste travail.

Toutes nos reconnaissances à Mr Boubendir Abdlhafid, notre encadreur de mémoire, pour nous avoir encadré. Il a guidé efficacement nos travaux. Nous le remercions pour sa disponibilité et, ses conseils scientifiques qui ont guidés très efficacement ce travail.

Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury, nous exprimons nos gratitude à Madame Moufida BOUCHEKRIT. d'avoir accepté la présidence du jury de ce travail.

Nous exprimons également nos reconnaissances à M^{lle} Nourelhouda RABHI qui a accepté de participer à ce jury et d'avoir bien voulu juger ce travail.

Un grand remerciement pour tous nos enseignants de Biologie pour leurs contributions dans notre cursus universitaire

Merci 



A l'éternel, le Tout Puissant (ALLAH)

*A lui tout ce qui est dans les cieux et sur terre. Nul ne peut intercéder auprès de
lui, qu'avec sa permission, il est le très haut et le très miséricordieux.*

Je dédie ce modeste travail à

*Mon père : qui m'a donné l'amour, la volonté, toutes les possibilités et la
protection pour gagner les meilleurs résultats*

*Ce travail représente l'aboutissement du soutien et
des encouragements qu'il m'a prodigué tout au long de ma scolarité.*

*A tous mes frères et mes sœurs "Randa et Houda" que Dieu me les gardes, Ma
très chère sœur Olia pour leur encouragement et Mon frère Azzouz pour
son soutien A mes amies "Nafissa, Nor el houda, Aziza, Malika, Soumia,
Raouia, Nardjess, Hanan et Wafa" A mes chères Cousines " Hassina, Radia et
Karima"*

*Asma
Asma*

Enfin a toute ma promotion de Biologie 2014.



Dédicace

Louanges à ALLAH,

que le salut et la bénédiction soit sur son prophète, sur les gens de sa maison,

sur l'ensemble de ses compagnons et sur tous ceux qui suivent et suivront leurs

traces

Jusqu'à le jour de résurrection.

Je tiens à dédier ce modeste travail

A mes très chers parents pour leur contribution,

leur soutien, leur patience ; et ses prières pour moi

Mes sœurs et ses enfants à Mes frères Et A Ma grande famille Pour leur

encouragement et leur affection,

A mes très chères amies : ASMA, Nor el houda, Raouia, Aziza, Farida,

Nardjess, Imane et Wafa.

A Tous mes amies et mes collègues de promotion.

Nafissa



Au Nom d'ALLAH, le tous Miséricordieux le très Miséricordieux

Je dédie ce travail à :

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. Ma chère sœur: Amira pour leur soutien et encouragement.

Mon cher frère: Nassr eddine pour son soutien moral et encouragement.

A Mes grandes mères. A toute la famille : Bouras et Tabchouche.

A mes tentes Razika: Laila, Amel, Fatima, Salima, Samia et Nedjwa.

Et mes oncles : Nor eddine, Mourad Salim Abdlhak Khaled Hamza, et Rabah, Mouhamed et Ahmed.

A tous mes amis «Imane, Ismahane, Asma, Nafissa, Hakima, Rahma, Meriem, Nadjat ». Aux étudiants de « Biochimie et Microbiologie appliquée ».

À ceux et celles qui me aide d'une façon ou d'une autre de près ou de loin.

Raouia

Liste des figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 01	Les Microbiologistes utilisent une taxonomie microbienne(Betsy et Keogh, 2005).	04
Figure 02	Coloniesde <i>Klebsiella pneumoniae</i> avecunbordlisse etunesurface luisante (Kenneth et George, 2004).	06
Figure 03	L'étirement d'une colonie de <i>K. pneumoniae</i> provoque la formation d'un fil de plus de 5mm de longueur (Victor et al.2007).	06
Figure 04	Des cellules de <i>K. pneumoniae</i> entouré par d'épaisses couches de matière capsulaire (Podschun et Ullmann, 1998).	12
Figure 05	Facteurs de virulence de <i>Klebsiella spp.</i> (Podschun et Ullmann, 1998).	13
Figure 06	Ordre chronologique de la découverte des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique (Maurice, 2007).	14
Figure 07	Représentation schématisédesisoformesTn4401sur le plasmidede <i>K.pneumoniae</i> qui produits les Carbapénémases de <i>K.pneumoniae</i> (KPC) (Gaëlle et al, 2010).	20
Figure 08	Structures des fluoroquinolones acétylées par l'aac (6')-Ib-cr, l'amine acétylée est colorée en rouge (Maurice, 2007).	23
Figure 09	Effets des enzymes modifiantes les aminoglycosides (Arafa, 2009).	24
Figure 10	Répartition d'isolements de 174 souches de <i>Klebsiella spp.</i> dans l'hôpital à Mila.	29
Figure 11	Matériel d'étude et colorants de Gram.	31
Figure 12	Méthode d'isolement de <i>Klebsiella spp.</i> selon les différents la nature des prélèvements.	31
Figure 13	L'ensemencement sur le milieu Hektoen par la méthode de stries.	32
Figure 14	Coloniesde <i>Klebsiella spp.</i> sur milieu Hektoen dans l'hôpital.	32
Figure 15	Aspect du milieuTSI avec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 16	Aspect du test ONPG positif avec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 17	Aspect du milieu citrate de Simmonsavec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 18	Aspect du test positif d'indoleavec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 19	Aspect du test VP positif. avec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 20	Aspect du test RM négatif. avec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 21	Aspect du test positif du test Uréaseavec <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	35
Figure 22	Schéma d'un antibiogramme par la méthode des disques (Joffin et Leyral, 2006).	36

Figure 23	Position des disques du test de l'antibiogramme.	38
Figure 24	Résultat de l'antibiogramme après l'incubation.	38
Figure 25	Incidence globale de <i>Klebsiella spp.</i> selon le sexe.	39
Figure 26	Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon la nature de prélèvements.	40
Figure 27	Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila.	42
Figure 28	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2007.	43
Figure 29	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2008.	44
Figure 30	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2009.	45
Figure 31	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> Isolées à l'hôpital de Mila en 2012.	46
Figure 32	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2013.	47
Figure 33	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila pendant 5 ans.	48
Figure 34	Evolution de l'antibiorésistance chez les souches de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila entre 2007 et 2013.	52
Figure 35	Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella spp.</i> par ACP.	54

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 01	Identification biochimique des Entérobactéries (Guiraud, 1998; Prescott et Klein, 2003; Jerom et al. 2004; Madigan et Martinko, 2007).	07
Tableau 02	Caractères phénotypiques des espèces de <i>Klebsiella spp.</i> et des subsp. <i>K.pneumoniae</i> (Brisse et al. 2006; Podschun et Ullmann, 1998; Denis et al. 2007).	08
Tableau 03	Le pouvoir pathogène de différentes espèces de <i>Klebsiella spp.</i> (Jerom et al. 2004; Berthet, 2006; Michael et Mariton, 2007 ; Didier, 1998; Denis et al. 2007).	11
Tableau 04	Classification des antibiotiques selon leurs modes d'action et leurs cibles (Maurice, 2007).	15
Tableau 05	Les principaux antibiotiques en Algérie (Rahal, 2010).	16
Tableau 06	Fréquences d'isolement des souches de <i>Klebsiella spp.</i> selon les années d'étude dans l'Hôpital de Mila.	28
Tableau 07	Incidence des souches <i>Klebsiella spp.</i> isolées selon l'origine externe ou interne dans l'hôpital de Mila.	29
Tableau 08	Matériel et produits utilisé au niveau de l'hôpital de Mila.	30
Tableau 09	Identification biochimique de <i>Klebsiellaspp.</i>	34
Tableau 10	Principaux disques d'antibiotiques utilisés dans le test de l'antibiogramme à l'hôpital de Mila.	37
Tableau 11	Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon le sexe à l'hôpital de Mila de 2007 à 2013.	39
Tableau 12	Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon la nature de prélèvement isolée à l'hôpital de Mila.	40
Tableau 13	Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila l'année 2012.	41
Tableau 14	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2007.	42
Tableau 15	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2008.	43
Tableau 16	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2009.	44
Tableau 17	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2012.	45
Tableau 18	Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2013.	46
Tableau 19	Antibiorésistance totale des souches de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila pendant 5 ans.	48
Tableau 20	Evolution de l'antibiorésistance des souches de <i>Klebsiella spp.</i> de 2007 à 2013 isolées à l'hôpital de Mila.	52
Tableau 21	Matrice de corrélation Pearson (n).	54
Tableau 22	Vecteurs propres.	54
Tableau 23	Valeurs propres.	54

Liste des abréviations

ACP: Analyse en Composantes Principale.

ADN: Acide désoxyrébonucléotide. **AmpC:** Céphalosporinases de classe C. **ARN_m:**

Acide Rébonucléotide Messenger. **ARN:** Acide Rébonucléotide. **ARN_t:** Acide

Rébonucléotide de transfert. **BLIS:** Inhibiteurs des β -lactamase. **BLSE:** β -lactamase à

Spectre Elargie. **E. coli:** *Escherichia coli*.

EMA: Enzymes Modifiantes des Aminoglycosides.

FQ: Fluoroquinolones.

Kb: Kilo-base.

kDa: Kilo Dalton.

KPC: *Klebsiella pneumoniae* Carbapénémase.

LPS : Lipopolysaccharide. **nm:** nanomètre.

ONPG: Orthonitrophényl – B-D – Galactopyranoside. **PMQR :** Plasmid Mediated

Quinolone Resistance.

QepA : Pompe

d'efflux Fluoroquinolones. **Qnr :** Quinolone résistance. **QRDR:** Région

déterminant de la résistance aux quinolones. **RM :** Rouge de Méthyle. **SHV :** Variables

Sulphydryle. **TDA :** Tryptophane Désaminase.

TEM: Temoneira.

Tn: Transposon. **TSI :** Triple Sugar Iron. **VP :** Vosges-Proskauer.

μ m: Micromètre.

Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	IV

Introduction

Partie I : Recherche Bibliographique

Chapitre 01 : Caractère généraux de *Klebsiella spp.*

1. Historique.....	2
2. Classification	2
3. Caractères généraux.....	5
3.1.Caractères morphologiques et culturels.....	5
3.2. Caractères biochimiques.....	6
3.3. Ecologie et épidémiologie.....	9
4. Caractères antigéniques.....	9
4.1. Antigène K.....	9
4.2. Antigène O.....	10
5. Pouvoir pathogène.....	10
6. Facteurs de virulence.....	11

Chapitre 02: Résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella spp.*

1. Classification des antibiotiques.....	14
2. Bases moléculaires de l'antibiorésistance chez <i>Klebsiella spp.</i>	17
2.1. Gènes de la résistance aux β -lactamines.....	17
2.2. Gènes de la résistance aux Quinolones.....	22
2.3. Gènes de la résistance aux Aminoglycosides.....	23
2.4. Gènes de la résistance aux Macrolides.....	24
2.5. Gènes de la résistance aux Sulfamides et aux Chloramphénicol.....	25
3. Exemples des études réalisées dans le monde sur l'antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i>	25

Partie II:Recherche Expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Durée de l'étude.....	28
2. Souches bactériennes.....	29
3. Matériel.....	30
4. Méthodes.....	31
4.1. Culture et isolement	31
4.2. Identification.....	32
4.3. Teste de l'antibiogramme.....	36
5. Analyse statistique.....	38

Résultats et discussion

1. Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila.....	39
2. Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon le sexe.....	39
3. Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon la nature du prélèvement.....	40
4. Incidence de <i>Klebsiella spp.</i> selon le service hospitalier.....	41
5. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila.....	42
5.1. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2007.....	42
5.2. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2008	43
5.3. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2009.....	44
5.4. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2012.....	45
5.5. Antibiorésistance de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila en 2013.....	46
5.6. Antibiorésistance totale de <i>Klebsiella spp.</i> isolées à l'hôpital de Mila durant 5 ans	47
5.7. Evolution de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella spp.</i>	52
6. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella spp.</i>	54
Conclusion	56
Bibliographie	57

Annexes

Introduction

Klebsiella spp. sont des bactéries à Gram négative, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (Sylvain et al, 2006), elles sont retrouvées dans l'environnement (dans les eaux de surface, le sol, sur les plantes) et dans la flore humaine normale (comme un résident commensal du nasopharynx et du tractus gastro-intestinal) (Didier, 1998; Pérez-Moreno et al, 2011 ; El Fertas-Aissani et al, 2013).

Le genre *Klebsiella* est un agent pathogène opportuniste qui provoque souvent des infections chez les sujets immunodéprimés suite à des actes chirurgicaux lourds, de pose de cathéter et de dialyse. Elles surviennent surtout chez les débilisés (cancéreux, diabétiques, vieillards et nourrissons) (Richard et Grimont, 1992; Cabral et al, 2012; El Fertas-Aissani et al, 2013).

Klebsiella spp. est une cause importante de la pneumonie, la septicémie et des infections des voies urinaires ainsi que des maladies inflammatoires de l'intestin, des abcès du foie, de pus divers, de la maladie d'ozéne et de rhinosclérome (Avril et al, 1992; Podschun et Ullmann, 1998; Jerom et al, 2004). En outre, ces dernières années ont également vues l'augmentation des taux de résistance aux antimicrobiens dans les *Klebsiella spp.* (Pérez-Moreno et al, 2011).

La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et en particulier chez *Klebsiella spp.* est en progression continue à l'échelle mondiale, alors que ce problème était essentiellement d'ordre hospitalier, leur diffusion aujourd'hui dans le domaine communautaire présente un problème majeur de santé publique (Pérez-Moreno et al, 2011; Ben Haj Khalifa et Khedher, 2012).

Dans la partie bibliographique de cette étude, il a été décrit les caractères morphologiques, culturels, antigéniques, les facteurs de virulence ainsi que les mécanismes génétiques de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella spp.* La partie expérimentale a été consacrée à étudier les taux et l'évolution de la résistance de *Klebsiella spp.* aux antibiotiques durant la période 2007 à 2013 dans l'hôpital "sept frères Maghlawa" de Mila. Une Analyse en Composantes Principales a été conduite à fin d'élucider les interactions qui pourraient y avoir dans la résistance aux différents antibiotiques. Les résultats obtenus ont été confrontés aux données existantes dans la bibliographie.

1. Historique :

Le genre *Klebsiella*, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, il a été nommé par Trevisan (1885) à l'honneur du microbiologiste allemand Edwin Klebs. La première espèce type été *Klebsiella pneumoniae*. Elle a été décrite la première fois chez des patients atteints de rhinosclérome. L'organisme a été nommé "*Klebsiella rhinoscleromatis*" par Trevisan (1887).

Abel (1893) a observé un bacille encapsulé, *Bacillus mucosus ozaenae* dans la sécrétion nasale des patients atteints d'ozène. La bactérie a été plus tard transférée au genre *Klebsiella* (*K. ozaenae*). Friedländer (1892) a découvert une bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie. Cette bactérie a été nommée *Hyalococcus pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae* plus tard, un groupe de *K.pneumoniae* a été nommé *Klebsiella aerogenes*.

Cowan et al, (1960) ont subdivisé *K. pneumoniae* sensu lato en *K. pneumoniae* (stricto sensu), *K. aerogenes*, *K. edwards* subsp. *edwards*, et *K. edwards* subsp. *atlantae*. Ainsi *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* ont été traités comme des sous-espèces de *K. pneumoniae* dans le Manuel de systématique Bactériologique de Bergey. En 1886 Flügge a isolé une bactérie dite *Bacillus oxytocus pernicius* à partir du lait. Cette bactérie était nommée *Oxytocus aerobacter* et *Klebsiella oxytoca*.

Le recours à des tests d'utilisation de source de carbone et l'hybridation de l'ADN permet la caractérisation de deux nouvelles espèces principalement isolés à partir d'échantillons environnementaux: *K. terrigena* et *K. planticola* (Sylvain et al, 2006).

2. Classification :

Selon Bergey en 1994 (Delarras, 2007)

Embranchement : Gracilicutes, Gram⁻

Groupe 05: Bâtonnet, anaérobie facultatif, Gram-

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Klebsiella*.

Classification phylogénique de *Klebsiella* spp. selon Bergey en 2004 (Delarras, 2007)

Domaine : Eubactéria

Phylum XII : Protéobactéria

Classe : Gamma Proteobacteria

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Klebsiella*. (Figure 01).

Selon Avril et al, (1992), 6 espèces de *Klebsiella* spp. sont reconnues, quatre espèces ont un pouvoir pathogène pour l'homme: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae* et *K. rhinoscleromatis* et deux espèces sont trouvées dans l'environnement et sont rarement pathogènes: Ce sont *K. terrigena* et *K. planticola*.

Fauchere et Avril (2002) ont divisé le genre *Klebsiella* en sept espèces, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena* et *Klebsiella ornitholytica*.

Les espèces couramment rencontrés sont: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp *ozaena*, *K. pneumoniae* subsp *rhinoscleromatis* et *K. oxytoca* (Didier, 1998 ; Delarras, 2007 ; Denis et al, 2007).

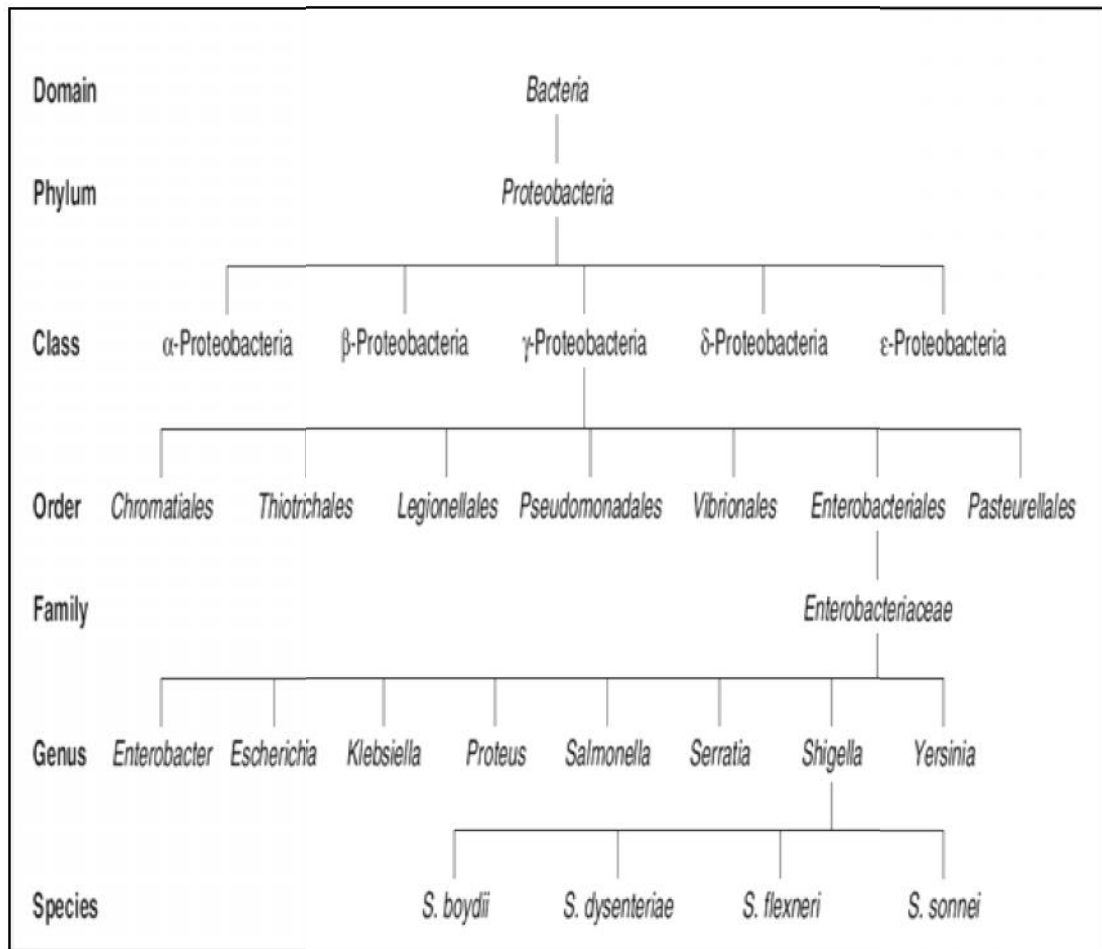


Figure 01: Les Microbiologistes utilisent une taxonomie microbienne (Betsy et Keogh, 2005).

3. Caractères généraux :

3.1. Caractères morphologiques et culturels :

Klebsiella spp. est une bacille à Gram négatif, leur taille varie de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de longueur. Les cellules sont isolées par paires ou en chaînes courtes, non mobile et très souvent encapsulés (Singelton, 2005 ; Delarras, 2007; Cavaret et Briffaud, 2009; Arafa, 2011). Cette capsule de nature polysaccharidique contient des acides glycuronique et galacturonique, et de 2 à 4 sucres (galactose, glucose, mannose, fucose et rhamnose) (Diallo, 2010). L'aspect des cultures est très florissant avec des colonies grasses (Figure 02) généralement rondes, de 3 à 4 mm de diamètre, bombées, muqueuses et ayant une tendance à la confluence (Figure 03) (Avril et al, 1992 ; Didier, 1998).

Klebsiella spp. développe entre 20 à 40°C avec un optimum de 37°C, ces germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5.5-8) sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique, ils ont un type respiratoire aéroanaérobie facultatif (Maurice, 2007).

Klebsiella oxytoca et *Klebsiella pneumoniae* se cultivent sur les milieux classiquement utilisés pour les entérobactéries : Gélose nutritive, gélose trypticase soja, gélose au sang, gélose de MacConkey, gélose lactosé, gélose éosine bleu de méthylène (EMB), gélose de Drigalski. *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, se cultivent en 24 heures. *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis* ainsi que quelques souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* de type capsulaire K1 cultivent plus lentement (Djelouat, 2011).

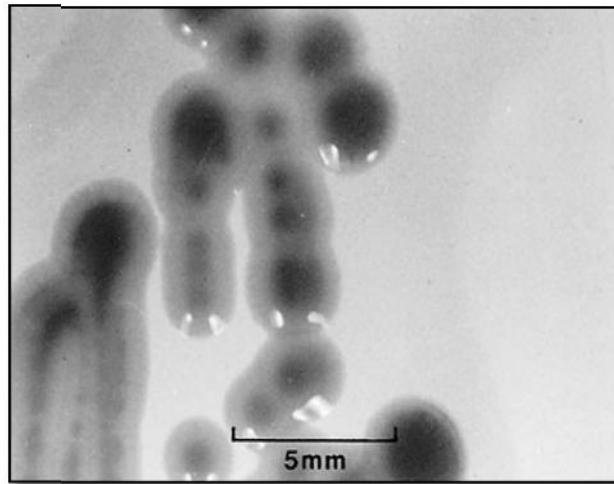


Figure 02: Colonies de *Klebsiella pneumoniae* avec un bord lisse et une surface luisante (Kenneth et George, 2004).

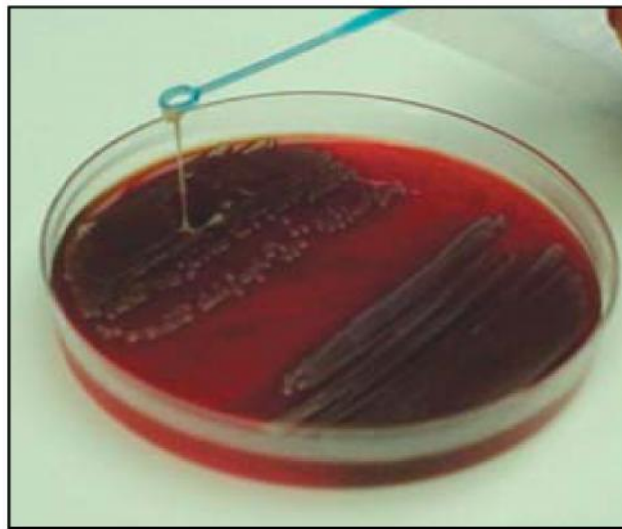


Figure 03: L'étirement d'une colonie de *K. pneumoniae* provoque la formation d'un fil de plus de 5mm de longueur (Victor et al, 2007).

3.2. Caractères biochimiques :

Ce sont des caractères permet de distinguer entre le genre *Klebsiella* et les autres entérobactéries (Tableau 01) et de distinguer les caractères des espèces au sein du même genre *Klebsiella* (Tableau 02).

Tableau 01: Identification biochimique des Entérobactéries (Guiraud, 1998; Prescott et al, 2003; Jerom et al, 2004; Madigan et Martinko, 2007).

Mobilité	Gaz	lactose	Bgal ONPG	Saccharose	Uréase	indole	VP	RM	H ₂ S	Citrate	Malonate	Mannitol	Gélatinase	LDC	ODC	ADH	TDA	APP	KCN	Caractères biochimiques
																				Entérobactéries
+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	-	-	Arizona
+	+	+	+	V	V	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	V	-	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>
+	+	+	+	V	V	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	V	-	-	-	<i>Citrobacter intermedius</i>
+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>Edwardsiella tarda</i>
+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Enterobacter aerogenes</i>
+	-	+	+	+	-	-	(+)	(-)	-	V	V	+	-	-	-	-	-	-	V	<i>Enterobacter agglomerans</i>
+	+	+	+	+	V	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	<i>Enterobacter cloacae</i>
+	-	-	-	V	-	-	+	-	-	V	V	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Erwinia amylovora</i>
+	+	+	+	V	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	V	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	V	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Hafnia alvei</i>
+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	<i>Morganella morganii</i>
-	-	-	(-)	-	-	-	(-)	(-)	-	-	(-)	(-)	-	+	+	-	V	-	(-)	<i>Abdominobacterium proteus</i>
+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	V	-	-	+	-	+	-	+	+	+	<i>Proteus mirabilis</i>
+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	<i>Proteus vulgaris</i>
+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	<i>Providencia alcalifaciens</i>
+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>Providencia rettgeri</i>
+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	V	-	-	-	<i>Salmonella</i> <i>sg</i>
-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	V	-	+	-	+	+	V	-	-	-	<i>Salmonella gallinarum</i>
+	V	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	<i>Serratia marcescens</i>
-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Shigella sonnei</i>
-	-	-	-	+	-	V	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella</i> (autres)
(+)	-	-	+	+	+	V	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	<i>K. oxytoca</i>
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	<i>K. pneumoniae</i>
-	V	V	-	-	-	-	-	+	-	V	+	+	-	+	V	-	-	-	+	<i>K. ozaenae</i>
-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	<i>K. rhinoscleromatis</i>

V : variable ; (-) ou (+) : irrégulier ou lent ; - ou + : majorité des biotypes.

Tableau 02 : Caractères phénotypiques des espèces de *Klebsiella* spp. et des subsp. *K.pneumoniae* (Sylvain et al, 2006; Podschun et Ullmann, 1998; Denis et al, 2007).

	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp			
Test	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>	<i>K. oxytoca</i>
Croissance à 5 ° C	-	-	-	-
Croissance à 41 °	+	+	+	+
Croissance à 44,5	+	ND	ND	d
Mobilité	-	-	-	-
Hydrolyse de l'urée	+	d	-	+
Essai ONPG	+	+	-	+
Indole produit	-	-	-	+
Voges –Proskauer (VP)	+	-	-	+
Lysine décarboxylé	+	d	-	+
Ornithine décarboxylée	-	-	-	-
Gluconate déshydrogénase	+	-	-	
Utilisation d'Adonitol	d	+	(+)	+
D-alanine	+	+	-	+
L- Arabitol	-	-	-	d
Benzoate	d	-	-	d
Dulcitol	d	-	-	d
I- érythritol	-	-	-	-
D- galacturonate	+	+	-	+
D- Glucuronate	+	+	-	+
Histamine	-	-	-	-
Lactulose	+	d	-	+
Malonate	d	-	d	d
1-O-méthyl-β-galactoside	+	+	-	+
3-O- méthyl-D- glucose	-	-	-	-
1-O-méthyl-α-D- glucoside	d	+	-	+
Le phénylacétate	d	d	-	+
L-rhamnose	+	d	+	+
D- Saccharate	+	d	d	+
D-sorbitol	+	d	d	+
L-sorbose	d	d	-	+
Saccharose	+	d	+	+
D- tartrate	d	-	-	-
L-Tyrosine	-	-	-	-

+ : 95–100% souches positives (1–2 jours), (+), 95–100% souches positives (1-4 jours)

- : 95–100% souches négatives (4 jours); d: réactions variables ; ND: non déterminé.

3.3. Ecologie et épidémiologie :

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des bactéries retrouvées dans l'environnement et dans la flore normale (tube digestive de l'homme et des animaux) (Didier, 1998). *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* sont les espèces les plus souvent rencontrées. Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol, des végétaux et d'aliments divers. Elles sont aussi présentes dans la flore fécale de 30 à 40 % des animaux sauvages ou domestiques et de l'homme, sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires. *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella rhinoscleromatis* ne sont pratiquement isolées que de l'arbre respiratoire de l'homme (Minor et Veron, 1989 ; Avril et al, 1992).

Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches, soit avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières (Avril et al, 1992). Le portage digestif de *Klebsiella* spp. est plus important chez les malades hospitalisés que dans la population normale. Les épidémies hospitalières sont dues à des souches multi résistantes et la transmission d'un malade à l'autre est habituellement manuelle (Fauchere et Avril, 2002).

Klebsiella spp. est très bien adapté à l'environnement de l'hôpital car elle présente une survie sur les mains et les surfaces environnementaux plus élevée que d'autres entérobactéries ainsi que les moyens de se propager rapidement et de provoquer des épidémies nosocomiales (Fauchere et Avril, 2002; Pérez-Moreno et al, 2011).

4. Caractères antigéniques :

4.1. Antigène K :

Les polysaccharides capsulaires sont des acides composés des répétitions de quatre à six sucres. Il a été montré que des groupes non glucidiques sont également présents sur certains types capsulaires (Podschun et Ullmann, 1998).

Il existe 77 antigènes capsulaires K: K1 à K72, K74, K79 à K82 (les antigènes K73 et K75 à K78 ne sont plus reconnus). Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent aux types capsulaires K1 et K2 et plus rarement K3 et K4 (Avril et al, 1992; Victor et al, 2007 ; Djelouat, 2011).

L'antigène K joue un rôle crucial dans la protection de la bactérie contre la phagocytose en bloquant le dépôt du complément ou leur activation. Il a été montré que les sérotypes K1 et K2 sont les plus virulents et que les sérotypes K7 et K21 ont une faible virulence. La teneur de la capsule polysaccharidique en mannose peut déterminer le degré de virulence d'un sérotype K (Podschun et Ullmann, 1998).

4.2. Antigène O :

Klebsiella spp. possèdent 13 antigènes somatiques O différents, neuf types d'antigène O se distinguent dans *K. pneumoniae*, dont les antigènes O1 étant les plus fréquents. Le rôle le plus important de l'antigène O est de protéger *K. pneumoniae* à l'action bactéricide du complément.

Merino et al, (2000) ont montré que l'antigène O5 est également essentiel pour la résistance au sérum et pour l'adhérence sur les cellules uroépithéliales (Podschun et Ullmann, 1998 ; Sylvain et al, 2006).

5. Pouvoir pathogène :

Klebsiella pneumoniae est une cause importante d'infection opportuniste telle que la pneumonie, la septicémie et les infections des voies urinaires ainsi que des maladies inflammatoires de l'intestin et des abcès du foie (Podschun et Ullmann, 1998).

Klebsiella pneumoniae subsp. *ozaenae* et *Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis* sont responsables de pathologies spécifiques respectivement l'ozéne et le rhinosclérome. Les autres espèces sont responsables de pneumopathies et d'infections urinaires communautaires ou nosocomiales. *K. pneumoniae*, est la plus souvent rencontrée peut provoquer une pneumonie grave susceptible d'entraîner des lésions ulcéreuses chroniques des poumons (Tableau 03) (Jerom et al, 2004).

K. pneumoniae et *K. oxytoca* sont isolées principalement de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépatobiliaires ou de pus divers. En raison du terrain débilité sur lequel elles se développent. *K. ozaenae* n'est pratiquement isolée que d'infections respiratoires chroniques. Elle est rarement isolée d'urines ou d'hémocultures. En milieu hospitalier elles sont aussi responsables de bactériémies, sur tous associés à des

infections sur cathéters et de surinfection de plaies chirurgicales (Tableaux 03) (Avril et al, 1992).

Tableau 03 : Le pouvoir pathogène de différentes espèces de *Klebsiella* spp. (Jerom et al, 2004; Didier, 1998; Denis et al, 2007)

L'espèce	La pathologie
<i>Klebsiella oxytoca</i> .	Pneumopathies, infection urinaire, infection plaies, bactériémies, infection intra-abdominale, infection sur cathéter et surinfection de plaies chirurgicales, colites aiguës, infection respiratoire et infection rénale.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Ozaenae</i> .	Ozène, infection de la peau et de la muqueuse nasale.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Rhinosclitomatis</i> .	Rhinosclérome, infection de la peau et de la muqueuse nasale.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> .	Pneumopathies, lésions respiratoire fibrineuse, méningite cérébro-spinale, infection urinaires, infections de plaies, bactériémie, infection intra-abdominales.

6. Facteurs de virulence:

Les recherches actuelles sur le pouvoir pathogène de *Klebsiella* spp. se concentrent sur la capsule, les pilis, les sidérophores et les Lipopolysaccharides.

➤ La capsule :

A été le premier facteur de virulence décrit, *Klebsiella* spp. développe habituellement des capsules composées des acides polysaccharidiques complexes (Figure 04), ces sous unités répétées sont constituées de quatre à six sucres et des acides uroniques. Peuvent être classés en 77 types sérologiques. Ceci protège la bactérie de la phagocytose d'une part et empêche la destruction des bactéries par des facteurs sériques bactéricides. In vitro, la présence d'une

capsule diminue l'attachement aux cellules intestinales et aux cellules vésicales. Cependant, La plupart des rapports sont d'accord que le sérotype K2 est parmi les types de capsules les prédominants des isolats cliniques humains dans le monde entier avec des infections urinaires, de pneumonie ou de bactériémie. Alors que les souches K2 sont très rarement rencontrées dans l'environnement (Podschun et Ullmann, 1998 ; Djelouat, 2011).

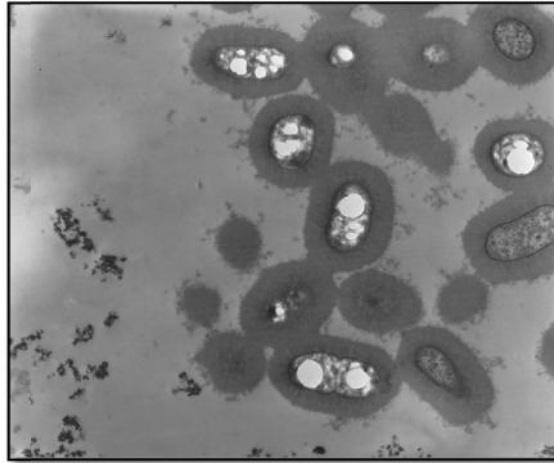


Figure 04 : Des cellules de *K. pneumoniae* entouré par d'épaisses couches de matière capsulaire (Podschun et Ullmann, 1998).

➤ **Pili (Fimbriae):**

Pili (autrement connu comme fimbriae) sont des projections non flagellaire et filamenteux sur la surface bactérienne. De 10 µm de longueur et de 1 à 11 nm de diamètre, ils sont constitués de sous unités protéiques globulaires (piline) avec une masse moléculaire de 15 à 26 kDa. Parmi les différents types de pilis décrit dans les entérobactéries, il existe deux types de pili prédominants chez *Klebsiella* spp. (Podschun et Ullmann, 1998).

- **Pili de type I :**

Ces adhésines bactériennes sont synthétisés uniquement par *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*, les fimbriae de type I semblent impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales (Podschun et Ullmann, 1998 ; Djelouat, 2011).

- **Pili de type III :**

Ce type fimbriale a été trouvé dans la majorité des souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE de type SHV-4. Les souches de *K. pneumoniae* exprimants des pili de type III adhèrent aux cellules endothéliales et épithéliales des voies respiratoires et les cellules uroépithéliales.

Ces pili pourraient permettre un attachement sur des surfaces inertes comme le matériel médical (Podschun et Ullmann 1998 ; Djelouat, 2011).

➤ **Sidérophores :**

La croissance des bactéries dans un tissu hôte est limitée non seulement par des mécanismes de défense de l'hôte, mais également par son approvisionnement en fer disponible. Le fer est un élément essentiel pour la croissance bactérienne, qui fonctionne principalement comme un catalyseur d'oxydoréduction dans les protéines (Podschun et Ullmann, 1998). De nombreuses bactéries sécurisent leur approvisionnement en fer chez l'hôte en sécrétant un chélateur de fer à haute affinité et à faible poids moléculaire appelés sidérophores, des systèmes de captation du fer (Djelouat, 2011). Chez *Klebsiella spp.*, il a été montré que la production des aërobactines est rarement observée. Alors que les entérobactines sont synthétisées par presque toutes les souches (Podschun et Ullmann, 1998).

➤ **Lipopolysaccharides :**

Les micro-organismes pathogènes ont développé des stratégies pour lutter contre l'effet bactéricide du sérum. En raison de leurs propriétés endotoxiques, LPS sont considérés comme importants dans la pathologie de la septicémie. Les LPS du *Klebsiella spp.* ont été généralement considérés comme masqués par les polysaccharides de la capsule et donc de ne pas être exposés sur surface. Les chaînes polysaccharidiques terminales (chaînes O spécifiques) du lipopolysaccharide protègent les bactéries de l'activation du complément et des anticorps spécifiques (Figure 05) (Podschun et Ullmann, 1998 ; Djelouat, 2011).

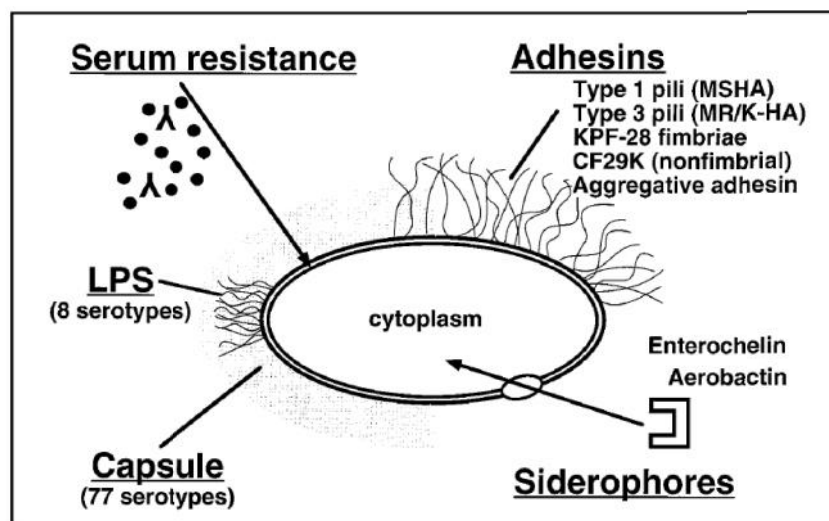


Figure 05: Facteurs de virulence de *Klebsiella spp.* (Podschun et Ullmann, 1998).

1. Classification des antibiotiques :

Le mot « antibiotique » (du grec anti : contre, et bios : la vie) est défini comme étant une substance naturelle ou synthétique capable d'empêcher la multiplication de certaines bactéries ou de les détruire en altérant l'activité chimique à l'intérieur de celles-ci ou l'action des substances chimiques dont elles ont besoin pour former des parois cellulaires saines (Savard et Pierre, 2008). La Figure 06 présente l'ordre chronologique de la découverte des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique.

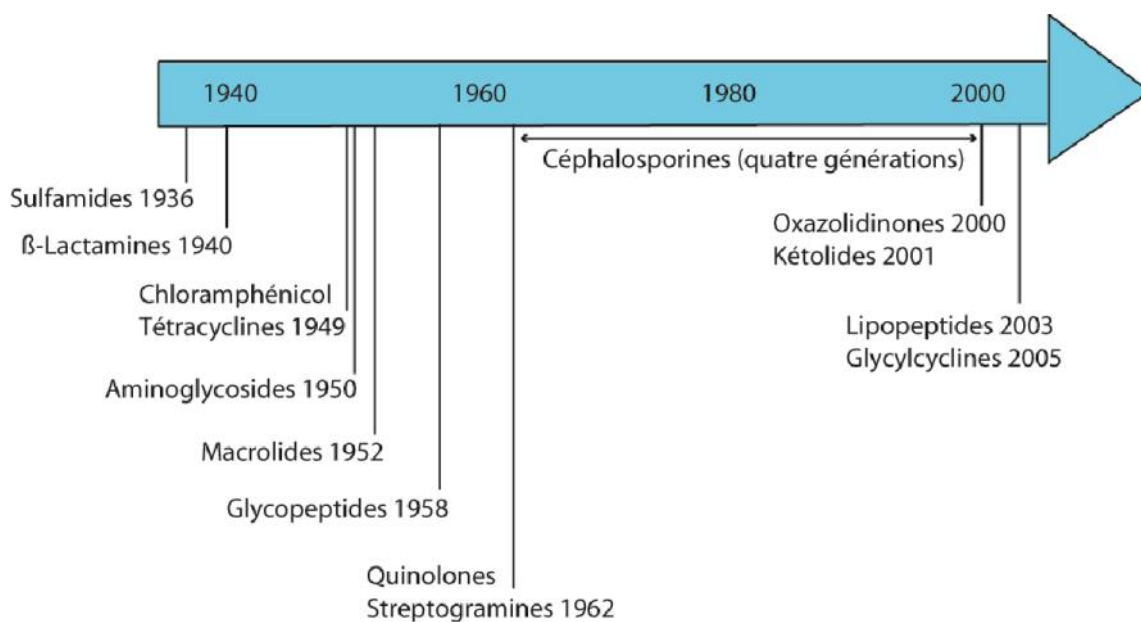


Figure 06: Ordre chronologique de la découverte des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique (Maurice, 2007).

La classification des antibiotiques est basée sur leur mécanisme d'action, leur origine, leur nature chimique et leur spectre d'action (Tableau 4) (Maurice, 2007).

Tableau 04: Classification des antibiotiques selon leurs modes d'action et leurs cibles (Maurice, 2007).

Cible	Classe	Exemple	Mode d'action	Spectre d'action
Paroi cellulaire	β -lactamines	Penicilline	Inhibition des transpeptidases	Gram ⁺
	Céphalosporines	Céfotaxime		Gram ⁺ Gram ⁻
	Glycopeptides	Vancomycine	Blocage de la synthèse du peptidoglycane	Gram ⁺
	Fosfomycines	Fosfomycine	Bloque la formation d'acide N-acétylmuraminique	Gram ⁺ Gram ⁻
Membrane plasmique	Polymexines	Polymexine B Colistine	Intéraction avec les phospholipides membranaires	Gram ⁻
	Lipopeptides	Daptomycine	Formation des canaux ioniques	Gram ⁺
Synthèse des acides nucléiques	Rifamycines	Rifampicine	Blocage de la transcription par l'inhibition de l'ARN polymérase	Gram ⁺ Gram ⁻
	Quinolones	Ciprofloxacine	Blocage de la réplication de l'ADN par l'inhibition du gyrase	Gram ⁺
Métabolisme de l'acide folique	Sulfamides	Sulfadiazine	Inhibition de la dihydrofolate synthétase	Gram ⁺ Gram ⁻
	Diamino-pyrimidines	Triméthoprim	Inhibition de la dihydrofolate réductase	Gram ⁺ Gram ⁻
Synthèse des protéines	Tétracyclines	Doxycycline	Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert aminoacylé à la sous unité 30 S	Gram ⁺ Gram ⁻
	Glycylcyclines	Tigécycline	Blocage de la sous unité 30 S par fixation au site de liaison de l'ARN _t	Gram ⁺ Gram ⁺
	Oxazolidinones	Linezolid	Inhibition de l'association des sous unités 30S et 50 S	Gram ⁺
	Macrolides	Erythromycine	Inhibition de l'élongation de la chaîne peptidique par fixation au site P de la sous unité 50S	Gram ⁺
	Kétolides	Télithromycine	Fixation sur un site supplémentaire de la sous unité 50S par rapport aux macrolides	Gram ⁺
	Synergistines	Stréptogamine A Stréptogamine B	Action synergique au niveau de la sous unité 50S : Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert au ribosome et inhibition de la transduction de l'ARN m	Gram ⁺ Gram ⁻
	Acide fusidique	Acide fusidique	Fixation aux facteurs EF-G d'élongation de la transduction, empêchant la fixation de l'ARN _t aminoacylé	Gram ⁺

Tableau 05 : Les principaux antibiotiques en Algérie (Rahal, 2010).

Famille	Exemple	Abréviation
β -lactamines	Pénicilline	P
	Oxacilline	OX
	Ampicilline	AM
	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline+Ac.clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Ticarcilline +Ac.clavulanique	TCC
	Pipéracilline	PIP
	Céfalexine	LEX
	Céfazoline	CZO
	Céfalotine	CEF
	Cépirome	CPO
	Céfoxitine	FOX
	Céfotaxime	CTX
	Céftiofur	TIO
	Céftriaxone	CRO
	Céftazidime	CAZ
	Aztréonam	ATM
	Imipénème	IPM
Aminosides	Gentamicine	GEN
	Gentamicine Haut niveau	GEH
	Streptomycine	STR
	Streptomycine Haut niveau	STH
	Kanamycine	KAN
	Amikacine	AMK
	Tobramycine	TOB
	Nétilmicine	NET
	Spectinomycine	SPT
	Néomycine	NEO
Cyclines	Tétracycline	TCY
	Doxycycline	DOX
Macrolides	Erythromycine	ERY
	Azithromycine	AZM
	Clindamycine	CLI
	Pristinamycine	PRI
	Spiramycine	SPI
	Tilmicosine	TIL
Phénicoles	Chloramphénicol	CHL
Polypeptides	Colistine	COL
Glycopeptides	Vancomycine	VAN
	Teicoplanine	TEC
Sulfamidesetassocies	Triméthoprim + ulfaméthoxazole	SXT
Quinolones	Acide nalidixique	NAL
	Ciprofloxacine	CIP
	Ofloxacine	LVX
	Norfloxacine	NOR
Nitrofurantoines	Furanes	NIT
Autres	Acide fusidique	FUS
	Rifampicine	RIF
	Fosfomycine	FOS

2. Bases moléculaires de l'antibiorésistance chez *Klebsiella spp.* :

Trois grands mécanismes de la résistance aux médicaments chez les bactéries à Gram négatif qui sont: L'acquisition de nouveaux gènes catalytiques des antibiotiques, des mutations de cibles d'antibiotiques et de protéines membranaires et l'expression différentielle des gènes spécifiques tels que ceux pour les pompes à efflux (Vinod et al, 2011).

2.1. Gènes de la résistance aux β -lactamines:

Les β -lactamines ont une longue histoire dans le traitement des maladies infectieuses, même si leur utilisation a été continue d'être confondu par le développement de la résistance chez les organismes cibles.

Un mécanisme majeur de la résistance aux β -lactamines est la production des β -lactamases : (Céphalosporinases de classe C (*AmpC*), les β -lactamases à spectre étendue (BLSE) classe A et D, et les Carbapénémase (classes A, B et D). Ces enzymes hydrolytiques perturbent la liaison amide du cycle β -lactamines à quatre chaînons caractéristiques, ce qui rend l'agent antimicrobien inefficace. Les BLSE constituent un problème majeur dans l'utilisation des β -lactamines pour traiter les maladies infectieuses, ils ont apparu après une large utilisation des β -lactamines à large spectre (Poole, 2004).

Les premières souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE étaient rapportées en Allemagne en 1982 (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010). Après, la résistance à la Céfotaxime et à l'Aztréonam a permis de retrouver une nouvelle β -lactamase chez une *Klebsiella pneumoniae* aux États-Unis en 1988 (Tlamçani et al, 2009). Et depuis cette date la découverte de nouvelles enzymes n'a pas cessé de croître (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010).

Les gènes codants pour les β -lactamases sont variables chromosomiques ou plasmidiques, souvent associés avec des éléments génétiques mobiles tels que les transposons et les intégrons, ces enzymes sont le plus souvent reportés dans *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Poole, 2004).

Les organismes producteurs de BLSE sont généralement résistants aux Pénicillines, Céphalosporines de première et de deuxième génération ainsi que les Oxyimino-Céphalosporines de troisième génération (Céfotaxime, Céfotazidime, Ceftriaxone) et aux Monobactames (Aztréoname), en conservant la sensibilité qu'à Céphamycines, Céphalosporines de quatrième génération (Céfepime, Céfpirome) et les Carbapénèmes (Poole, 2004; Cabral, 2012). Les types les plus répandus de BLSE sont :

Enzymes de classe A :

TEM (*TEM-1* ou *TEM-2*) et *SHV* (*SHV-1*) qui proviennent de mutations dans les gènes *TEM* classique (Temoneira) et *SHV* (variables sulfhydryle). Ces Pénicillinases *TEM-1* et *SHV-1* Hydrolyse seulement les pénicillines et les céphalosporines à spectre étroit (Poole, 2004; Cabral, 2012 ; Jina Lee, 2013).

Plus de 100 variations et mutations ponctuelles dans le gène *TEM* ont été signalées, Ces mutations sont le facteur le plus responsable de la résistance aux β - lactamines dans des isolats de *Klebsiella spp.*

La famille *SHV* des β -lactamases a été dérivée de *Klebsiella spp.* *SHV-1* est universellement trouvé dans *K. pneumoniae*, évolué comme un gène chromosomique dans *Klebsiella spp.* et plus tard a été incorporée dans un plasmide.

Les gènes *TEM* et *SHV* étaient très résistants aux antibiotiques (Ampicilline, Amoxicilline+Acide Clavulanique, Pipéracilline, Pipéracilline+Tazobactame, Ticarcilline, Ticarcilline+Acide Clavulanique, Céfixime, Céfuroxime, Céfpodoxime, Céfotaxime, Céftazidime, Aztreonam, Netilmicin, Amikacine, Gentamycine, Chloramphénicol, Cotrimoxazole, Tétracycline, Imipénème et Méropénème) ainsi qu'aux Céphalosporines de 3ème génération (Jain et Mondal, 2008).

La plupart des souches de *K. pneumoniae* sont sensibles aux Céphalosporines à spectre étroit et aux β -lactamines associés avec des inhibiteurs des β -lactamase (BLIS) le principal mécanisme responsable de la résistance à ces composés dans *K. pneumoniae* est l'hyperproduction de *SHV-1* (Pérez-Moreno et al, 2011).

Carbapénémases classe A:

La propagation rapide de *K. pneumoniae* productrice de *KPC* est une préoccupation clinique. Ce large spectre β -lactamases est en augmentation dans de nouveaux endroits dans le monde entier (Gaëlle et al, 2010). Les *KPC* sont des enzymes plasmidiques actives sur la plupart des β -lactamines, y compris les Oxyimino-céphalosporines et l'Imipénème. Une enzyme *KPC-1* récemment trouvée chez *K. pneumoniae*, une seconde *KPC-2* a été signalée chez *K. oxytoca* et *K. pneumoniae* et les enzymes *KPC-3* qui ont été décrits à *K. pneumoniae* (Poole, 2004).

Récemment, un transposon *Tn4401*, était identifiés dans *K. pneumoniae* productrice de *KPC* (Figure 07). Les gènes *KPC* hébergent tous les ingrédients moléculaires du transposon

aux plasmides autotransférables, ce qui facilite leur propagation rapide à *K. pneumoniae* et d'autres espèces bactériennes (Gaëlle et al, 2010).

Oxacillinases de classe D :

Ayant une activité Carbapénémase, contre les Carbapénèmes, ils sont rares et sont des enzymes sérine actifs inhibées par les inhibiteurs de β -lactamase disponibles (Acide Clavulanique). Ces enzymes sont capables d'hydrolyser des Pénicillines, Céphalosporines (première et deuxième génération), Imipénème (parfois Méropénème) et l'Aztréoname (Gaëlle et al, 2010). Aussi une enzyme OXA-48 a été décrite dans *K. pneumoniae* elle est codée par des plasmides et ayant une activité contre l'Imipénème (Vatopoulos, 2008).

Métallo- β -lactamases de classe B:

Une enzyme SHV de type SHV-38 codée par des chromosomes fournissant une sensibilité réduite à la Céftazidime et l'Imipénème a été décrite récemment chez *K. pneumoniae* (Poole, 2004).

La proportion de *K. pneumoniae* résistante à l'Imipénème en Grèce qui est passée de moins de 1% en 2001 à 20% des isolats provenant des services hospitaliers et 50% dans les isolats de soins intensifs en 2006 semble être dû à la propagation de la cassette *blaVIM-1* grâce à l'évolution rapide des plasmides multi-résistants chez les souches de *K. pneumoniae*, mais aussi d'autres espèces d'entérobactéries. Le *blaVIM* se trouve au niveau des intégrons de type I principalement fourni par des plasmides transférables dans la plupart des espèces des entérobactéries y compris *K. pneumoniae*. Ces intégrons contiennent typiquement les gènes : *blaVIM-1*, *aacA4*, *dhfrI* et *aadA*. Un gène *blaVIM* différent appelé *blaVIM-12a* a été isolé dans *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* (Vatopoulos, 2008).

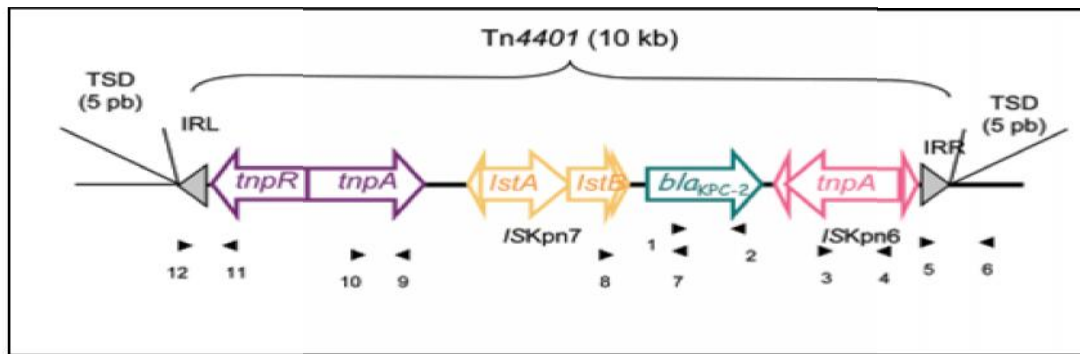


Figure07 : Représentation schématisée des isoformes *Tn4401* sur le plasmide de *Klebsiella pneumoniae* qui produit les Carbapénémases de *K. pneumoniae* (KPC).

Les gènes et leurs orientations de transcription correspondantes sont indiqués par des flèches horizontales. Les triangles gris représentent les répétitions inversées gauche (IRL) et droite (IRR) de *Tn4401*. Les petits et vides triangles représentent les répétitions inversées d'ISKpn6 et ISKpn7 (Gaëlle et al, 2010).

β -lactamase de type CTX-M :

La résistance aux Céphalosporines à spectre élargi peut se produire en *Klebsiella spp.* via la production de (BLSE) qui sont capables d'hydrolyser les Céphalosporines et les Monobactames. Les organismes produisant des β -lactamases de types CTX-M émergent partout dans le monde comme une source de résistance aux Céphalosporines tels que le Céfotaxime (CTX) (Pitout et al, 2004).

Les β -lactamases de type CTX-M-68 confèrent la résistance au Céfotaxime, mais pas la Céfotazidime (Helen et al, 2009). Les résultats de Cabral en 2012 ont indiqué que les isolats de *K. pneumoniae* qui présentaient le même profil de résistance aux antibiotiques ne pas présenter le même profil plasmidique qui montre qu'il n'existe aucune corrélation entre les plasmides et les gènes *blaSHV*, *blaTEM*, et *bla CTX-M*.

Parmi les types CTX-M, CTX-M-15 semble être la plus mondialement répandue, tandis que beaucoup d'autres BLSE de type CTX-M ont tendance à être plus limitée dans leur distribution. Il était également rapporté que CTX-M-15 est la plus dominante dans des études en Australie, France, Canada et Inde (Helen et al, 2009).

Les Céphalosporinases de classe C (*AmpC*) :

Les Céphalosporinases de classe C présentent des facteurs importants de la résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries. Les β -lactamases *AmpC* chez *Klebsiella spp.* sont codées par des plasmides. Les gènes *AmpC* d'origine plasmidique ont été mobilisés avec les chromosomes de certains organismes naturellement *AmpC* positifs.

La production des *AmpC* à médiation plasmidique est cliniquement importante en raison de leur capacité à conférer une résistance aux Pénicillines à large spectre, aux Céphalosporines, aux Monobactames à spectre étendu et aux Céphamycines. Les plasmides *AmpC* peuvent transporter des déterminants supplémentaires de la résistance aux antibiotiques autres que les β -lactamines (Poole, 2004 ; Chelsie et al, 2012). Il a été détecté dans des isolats de *K. pneumoniae* des gènes à médiation plasmidique codants pour des enzymes *AmpC* tels que le *DHA-1* et *CMJ-1* (JinaLee, 2013). D'autres chercheurs ont signalés que la résistance au Céfoxitine était en général un indicateur non spécifique de la production *AmpC* (Philip et Coudron, 2005).

Autres BLSE :

Au cours des dernières années, un excès des BLSE non *TEM*, non *SHV* et non *OXA* ont été signalés dans plusieurs organismes partout dans le monde (les familles *BES*, *GES*, *PER*, *TLA*, *VEB*). Contrairement aux BLSE (*TEM*, *SHV* et *OXA*) et ces dérivés qui résultent de mutation de leurs homologues à spectre étroit, beaucoup de ces autres BLSE sont généralement des enzymes naturellement à large spectre, est issue d'origine naturelle à savoir chromosomique, plasmidiques ou issues d'autres éléments mobiles.

-*PAR-2* : a été identifiée dans *K. pneumoniae*, cette enzyme hydrolyse préférentiellement et favorise la résistance aux deux Céphalosporines (Céftazidime et Aztréonam).

-*IBC-1* : est codée par un gène associé à un intégron, il est vu dans *K. pneumoniae* et *E. coli*.

- *GES-1* et *GES-2* : enzymes rapportés dans *K. pneumoniae*, leurs gènes sont associés à des intégrons.

-*OXY-2* : une enzyme chromosomique en *Klebsiella oxytoca* précédemment surnommé K1 et maintenant appelé *OXY-2* (Poole, 2004).

2.2. Gènes de la résistance aux Quinolones:

Klebsiella spp. est naturellement sensible aux Quinolones ; l'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine a fait augmenter la résistance de *Klebsiella spp.* aux Quinolones. Pendant plus de 30 ans, les seuls mécanismes de la résistance aux Quinolones connus avaient un support chromosomique. Depuis 1998, des déterminants d'origine plasmidique ont été découverts.

En 1998, Martinez a découvert le premier déterminant de la résistance plasmidique aux Quinolones chez *Klebsiella pneumoniae* (gène *Qnr A1*). Depuis, de nouveaux types résultants de successions d'acides aminés ont été identifiés (*Qnr A2*, *Qnr B1*, *Qnr S1*...) (Tlamçani et al, 2009).

La résistance aux Quinolones a connu ces dernières années une augmentation importante, la situation épidémiologique mondiale de la résistance de *Klebsiella spp.* aux Quinolones est très variable, 10 % à Tawain, 28 % au Liban et 33 % au Maroc (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010). Les déterminants plasmidique de la résistance aux Quinolones (PMQR) ont ajouté une nouvelle dimension dans la résistance aux Quinolones. Ces déterminants transférables comprennent:

- Les protéines *Qnr* (*QnrA*, *QnrB*, *QnrS*, *QnrC*, et *QnrD*) appartenant à la famille des penta-peptides répétés, qui protège l'ADN gyrase et la topoisomérase IV de l'inhibition par les Quinolones.

- Aac (6')-Ib-cr* est une Aminoglycosides Acétyltransférase, capable d'acétyler la Ciprofloxacin et la Norfloxacin, en réduisant ensuite leurs activités (Figure 08).

- La protéine spécifique pompe d'efflux Fluoroquinolones, *QepA*, impliqué dans le pompage du Quinolones hors les cellules bactériennes (Tlamçani et al, 2009 ; Karah et al, 2010).

Des mutations dans *QRDR* (région déterminant de la résistance aux Quinolones), sur les gènes *gyrA* et *parC* ont été trouvées dans certaines des isolats résistants à l'Acide Nalidixique et à la Ciprofloxacin. Il a été également décrit dans d'autres études un gène *Qnr* parmi les isolats sensibles à l'Acide Nalidixique, avec l'absence des mutations dans le *QRDR* dans ces isolats, cela est probablement due à une propagation cachée de ces gènes. (Karah et al, 2010).

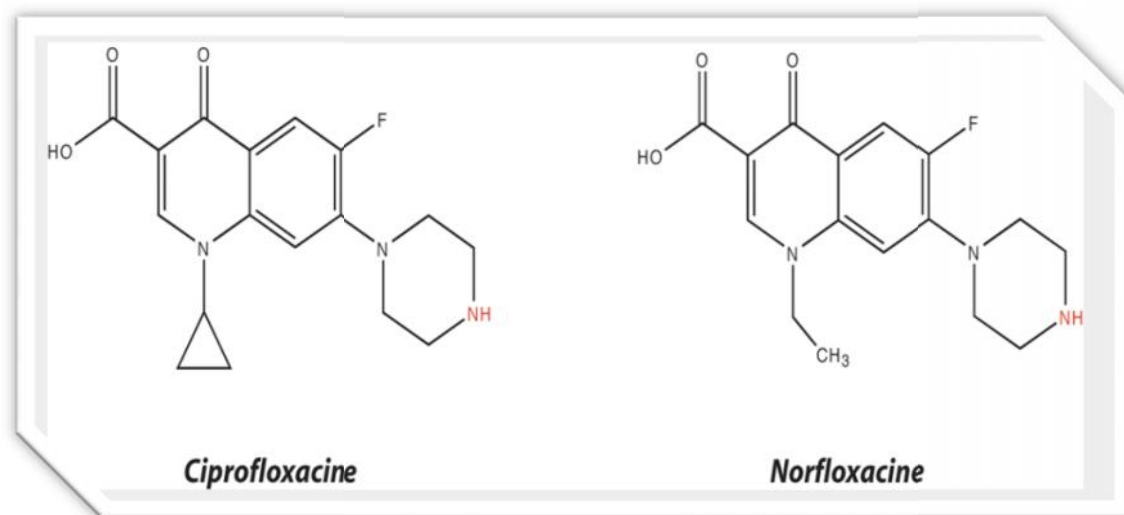


Figure 08 : Structures des Fluoroquinolones acétylées par l'*aac (6')-Ib-cr*, l'amine acétylée est colorée en rouge (Maurice, 2007).

2.3. Gènes de la résistance aux Aminosides:

Dans une étude réalisée en Algérie sur des souches de *K.pneumoniae* ; une résistance aux Aminosides a été marquée pour la Gentamicine et la Tobramicine, 67% et 65% respectivement. En revanche l'Amikacine reste relativement plus efficace avec un taux de résistance plus bas touchant 52% des souches (Arafa et al, 2009).

Habituellement, la résistance aux Aminoglycosides est due à la présence des enzymes modifiantes des Aminoglycosides (*Aac (3)-II* et *Aac (6')-Ib*) qui sont censés avoir une activité élevée contre l'Amikacine et la Gentamicine, et la diffusion de la résistance peut s'effectuer par des intégrons. Des études sur les mécanismes de la résistance aux Aminoglycosides ont montré la production d'enzymes modifiantes des Aminoglycosides, y compris: Aminosides acétyltransférases, Aminoglycosides phosphotransférases, et des Aminoglycosides adényltransférases (Figure 09)(Ling Ma et al, 2009).

Ainsi, des rapports récents ont mis en évidence l'importance de l'émergence des gènes codants pour des méthylases de l'ARNr 16S (gènes *armA* et *rmtB*) portés par un plasmide. Les méthylases de l'ARNr 16S sont capables de conférer une résistance à haut niveau aux Aminoglycosides souvent en association avec les BLSE et les Carbapénémases (Ling Ma et al, 2009; Bjørg et al, 2014).

L'étude réalisée en 2009 par Ling Ma et al, a montré que les déterminants de la résistance à l'Amikacine étaient cotransférables avec les déterminants des BLSE par conjugaison dans toutes les souches de *K. pneumoniae* étudiées. Aussi, dans une étude en Norvège, il a été montré qu'une grande proportion des souches résistantes aux Aminoglycosides étaient productrices de BLSE ce qui soutient l'idée que la prévalence croissante des souches résistantes aux Aminoglycosides est en partie associée à l'augmentation de la prévalence de BLSE et que les gènes codants pour les enzymes modifiantes des Aminoglycosides et les méthylases de l'ARNr 16S sont situés sur des éléments génétiques mobiles avec d'autres déterminants de la résistance tels que les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les Carbapénémase en résultant des isolats multirésistants (Björg et al, 2014).

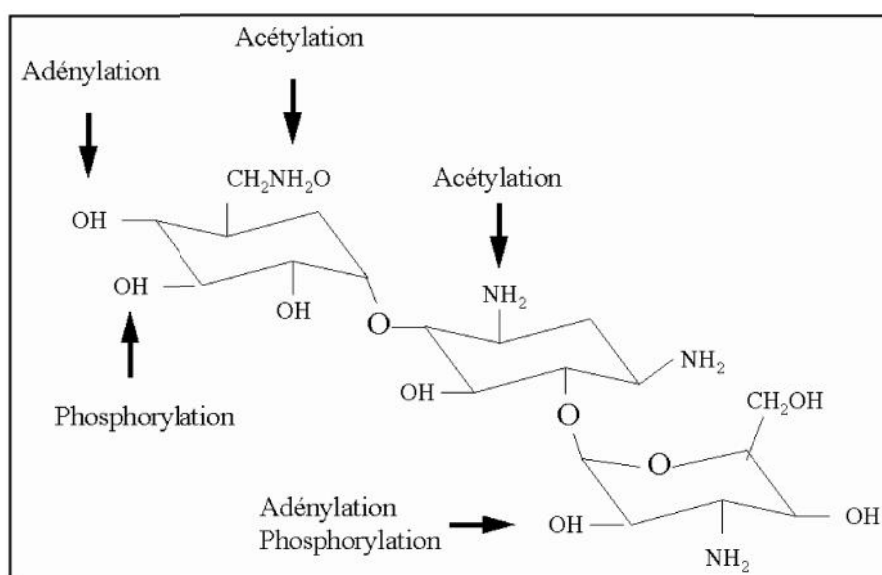


Figure 09: Effets des enzymes modifiantes des Aminoglycosides (Arafa, 2011).

2.4. Gènes de la résistance aux Macrolides :

Les Macrolides sont généralement actifs contre les cocci et les bacilles à Gram positif, ces antibiotiques ne sont pas actifs contre la plupart des entérobactéries. Cependant, ils possèdent une activité modérée contre d'autres organismes à Gram négatif in vitro. La résistance pour les Macrolides est un résultat des modifications à médiation plasmidique : soit par diminution de la perméabilité de l'antibiotique à travers l'enveloppe cellulaire, par production des estérases qui hydrolysent les Macrolides ou par production d'une enzyme méthylase qui méthyle spécifiquement les résidus d'adénine dans l'ARNr 23S et modifie la cible ribosomale, ce qui réduit la liaison des Macrolides aux ribosomes. La résistance aux Macrolides peut aussi

se produire par des mutations chromosomiques qui modifient une protéine ribosomique 50S (Fayaiz et al, 2002).

Ritchie et al, (1993) ont déclaré que *Klebsiella pneumoniae* est résistante à l'Erythromycine, il a été également observé que *Klebsiella spp.* a montré une très grande résistance contre l'Erythromycine, la Clarithromycine et Roxithromycine. Les taux de résistance sont: 86%, 83 % et 86 % respectivement et que la résistance à l'Erythromycine à deux origines chromosomique et plasmidique.

2.5. Gènes de la résistance aux Sulfamides et aux Chloramphénicols:

Vinod et al, (2011) ont trouvé parmi les séquences complètes du génome de *K. pneumoniae* un gène *sul1* codant pour la protéine de la résistance aux Sulfamides et un gène *cat* codant pour l'enzyme Chloramphénicolacétyltransférase.

3.Exemples des études réalisées dans le monde sur l'antibiorésistance de *Klebsiella spp.*:

3.1. Etude espagnole sur les mécanismes moléculaires de la résistance impliqués dans la réduction de la sensibilité à l'Amoxicilline / Acide Clavulanique chez *Klebsiella pneumoniae*:

Une enquête rétrospective de la résistance aux antibiotiques a été réalisée par Pérez-Moreno et al, (2011) dans un laboratoire de Microbiologie dans un hôpital en Espagne a révélé une augmentation importante de la résistance à l'Amoxicilline+ Acide Clavulanique (AMC) parmi les isolats de *K. pneumoniae* sensibles à la Céfazoline provenant de patients d'un hôpital de soins chroniques. Le but de ce travail était d'étudier l'épidémiologie et les mécanismes moléculaires responsables de cette réduction.

Au total, 51 (29,8 %) des 171 isolats de *K. pneumoniae* récupérés entre 2006 et 2008 étaient non sensibles à AMC, dont 45 étaient sensibles à la Céfazoline. L'analyse par séquençage nucléotidique a révélé que 19 isolats étaient producteurs du *IRT-11* et 26 étaient producteurs de *OXA-1*. Tous les isolats producteurs de *OXA-1* hébergent la cassette *aac (6')-Ib-cr-bla_{OXA-1}*, qui a été dans 23 isolats localisée avec *catB3* et *arr3* dans un intégron de classe I et associés avec *qnrS2*. Les gènes codant pour *IRT-11* et *OXA-1* ont été transférés par conjugaison, et *aac (6')-Ib-cr* et *qnrS2* étaient systématiquement co-transférés avec *bla_{OXA-1}*. Ces résultats démontrent que la prévalence élevée de la sensibilité diminuée à AMC entre *K. pneumoniae* est principalement due à la propagation simultanée de deux clones différents, l'un qui représentait des isolats produisant *IRT-11* et les autres isolats qui

avaient acquis soit le gène *blaOXA-1* situé dans un intégron de classe 1 et liée à *qnrS2* ou le gène *blaIRT-11* (Pérez-Moreno et al,2011).

3.2. Etude indienne sur la résistance plasmidique à la Céfoxitine chez des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichiacoli* :

Les β -lactamines, en combinaison avec des Aminoglycosides, sont parmi les antibiotiques les plus commandés. Toute fois, en raison de l'utilisation très étendue et non nécessaire, la résistance à ces médicaments n'arrêtepas d'augmenter. Au cours des dernières années, la résistance bactérienne dans la population indienne est augmentée, il est nécessaire de connaître la prévalence et la complexité de la résistance de ces souches, afin de formuler une politique pour le traitement empirique.

180 isolats d'*E. Coli* et 61 isolats de *Klebsiella pneumoniae* obtenus à partir de (912) échantillons de pus et 1743 d'urine aussi leurs taux et leurs mécanismes de résistance ont été observées. Les isolats ont été analysés pourdéterminer les phénotypes de résistance aux Aminoglycosideset Céphalosporines etla présence de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) et des enzymes *AmpC*. 14 isolats de l'*E.coli* et 6 de *K. pneumoniae*, résistants à tous les antibiotiques testés, ont été sélectionnés pour l'étude.

Les Résultats ont montré que les souches de *E. Coli* d'origine urinaire ont une sensibilité maximale à l'Amikacine (57,1%), suivie par la Tobramycine (38,5%) et de la Gentamicine (31,9%), (19,8%) des isolats étaient sensibles à la Céfotaxime, alors que (12,1%) étaient sensibles à la Céftriaxone.

Les échantillons de *K. pneumoniae* isolés à partir d'urine ont montré une sensibilité maximale à la Tobramycine (63,6%), suivie par l'Amikacine (54,5%). 31,8% des souches *K. pneumoniae*, étaient sensibles au Céfotaxime et 13,6% étaient sensibles à la Céftriaxone. Une tendance plus ou moins similaire de sensibilité aux antibiotiques a été notée dans *E. coli* et *K.pneumoniae* isolés à partir d'échantillons de pus. (14,4%) *E. coli* et (24,6%) *K. pneumoniae*étaient des producteurs de BLSE. (9,9%) de *E. coli* et 19 (31,1%) *K. pneumoniae*étaient producteurs des enzymes *AmpC*. L'apparition simultanée des enzymes BLSE et *AmpC* a été noté dans 7,7% et 9,8% des isolats de *E. coli* et *K. pneumoniae* respectivement.

Ils ont conclu que la fréquence des isolats bactériens multi résistants est assez élevée dans la population bactérienne. Un plasmide de 19,9 kb a été constamment présent dans tous les

isolats analysés de *E. coli* et *K. pneumoniae*, et été pour coder la résistance à la Céfoxitine et à la Tétracycline(Shahid et al,2008).

3.3. Etude espagnole sur les infections à *Klebsiella pneumoniae* dans les d'organes solides greffés (épidémiologie et résistance aux antibiotiques):

Klebsiella pneumoniae est une source d'infection nosocomiale chez les bénéficiaires des organes pleins. Ce sont également les espèces les plus communes capables de produire les BLSE, son traitement peut donc être un défi en raison de la résistance aux antibiotiques.

Cette étude a été réalisée sur les receveurs de greffe à partir de Juillet 2003 à Décembre 2007. Un total de 1057 patients ont été inclus , (48 %) rénale , (34 %) du foie , (7 %) cœur et (10%) des greffes doubles. Ils ont diagnostiqué 116 infections de *K pneumoniae*, chez 92 patients au cours de la période d'étude, (53%) étaient des souches productrices de BLSE. (29 %) des épisodes avaient des bactériémies, dont 15 ont été causés par des souches productrices de BLSE. Il n'y avait pas des souches de *K. pneumoniae* productrices des Carbapénémases (KPC).

Les principaux sites d'infection étaient 72 % des voies urinaires, 5% plaie chirurgicale, 6 % intra-abdominale, 5% le cathéter, 1% du poumon, 1% circulation sanguine, et 2% d'autres. Ils ont conclu qu'il y avait une forte incidence des infections par *K. pneumoniae* productrices de BLSE chez les transplantés rénaux et ceux qui doivent dialyser étaient plus susceptibles de développer une infection par cette souche (Linares et al, 2010).

Matériel et Méthodes :

Durant nos stages de Licence (2012) et de Master (2014) dans le laboratoire de Microbiologie à l'hôpital "sept frères Maghlawa" de Mila, nous nous sommes intéressés à isoler, identifier et étudier l'incidence de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella spp.* Les isolats provenaient des urines, des pus, des prélèvements vaginaux et hémocultures chez des patients consultants et hospitalisés. Les résultats obtenus durant nos séjours sont renforcés par les résultats d'analyses microbiologiques gardés dans l'archive du laboratoire de 24/02/2007 à 18/06/2013 (Voir l'Annexe de A à E).

1. Durée de l'étude :

La collecte des souches de *Klebsiella spp.* s'est étendue sur environ 5 ans (de Février 2007 à Juin 2013) avec des fréquences d'isolements indiqués dans le Tableau 06 et la Figure 10.

Tableau 06: Fréquences d'isolement des souches de *Klebsiella spp.* selon les années d'étude dans l'hôpital de Mila.

Années	Nombre des souches	Pourcentage
2007	48	27.58%
2008	25	14.36%
2009	27	15.51%
2012	64	36.78%
2013	10	5.74%
Totale	174	100%

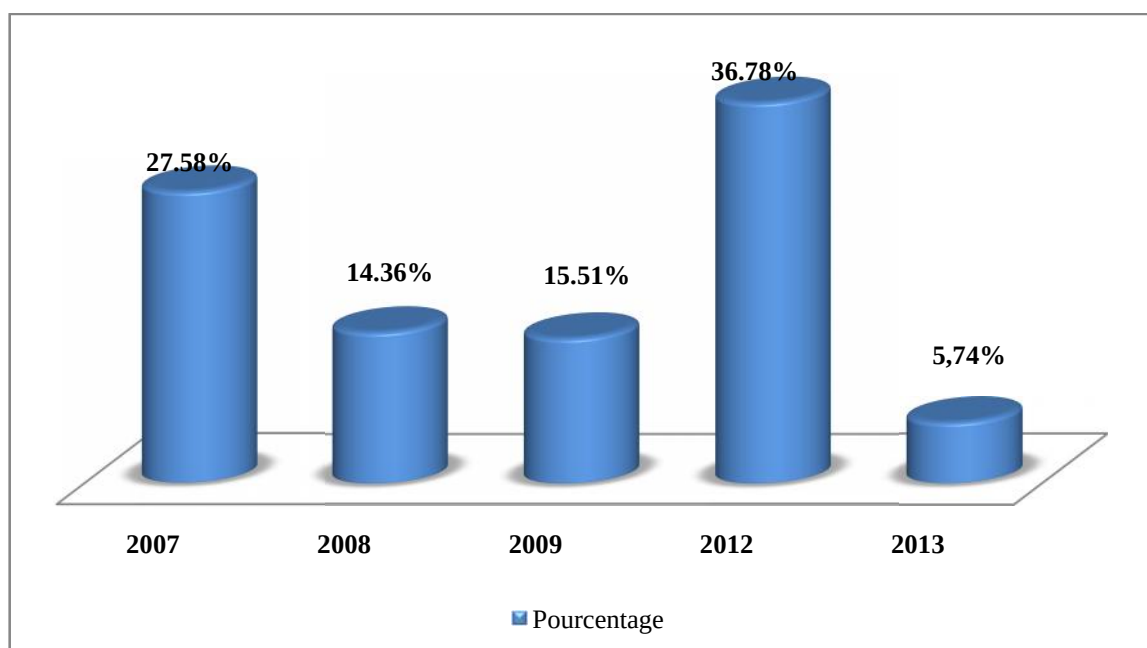


Figure10:Fréquencesd'isolementsde 174 souches de *Klebsiella spp.*à l'hôpital de Mila.

2. Souches bactériennes :

Notre étude a porté sur des souches isolées et pré-identifiées au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital « sept frèresMeghlawa » de Mila par des méthodes microbiologiques standardisées (galerie biochimique). Nous avons étudié des souches provenant de patients hospitalisés dans les différents services, et des patients de consultationexterne, dont la distribution est donnée dans le (Tableau 07).

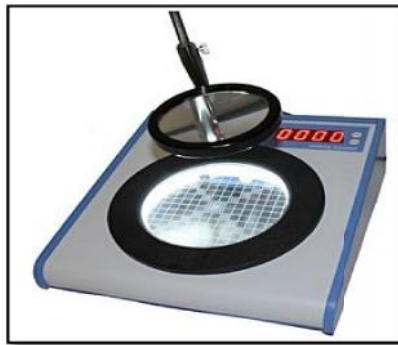
Tableau 07 : Incidence des souches *Klebsiella spp.* selon l'origineexterne ou interne à l'hôpital de Mila.

Souches	Nombre de souches	Pourcentage
Souches hospitalières	16	9.41%
Souches externes	32	18.82%
Souches d'origine inconnue	126	71.76%
Totale	174	100%

3. Matériel:

Tableau 08: Matériel et produits utilisés au niveau de l'hôpital de Mila

Matériel	Produits
-Boites de pétri	-Bleu de méthylène
-Lames et lamelles	-Eau physiologique
-Pipettes Pasteur	-Violet de gentiane
-Tubes à essai	-Lugol
-Microscope optique	-Alcool
-Bec benzen	-Fushine
-Etuve d'incubation (BINDER)	-Mannitol-Mobilité
-Anse de Platine	-Citrate de Simmons
-Ecouvillons	-TSI (glucose, lactose, saccharose, H ₂ S)
	-Bouillon Clarks et Lubs
	-Disques ONPG
	-Milieu Hektoen
	- Milieu Muller-Hinton
	-Disques d'antibiotiques



Compteur des colonies



Microscope optique



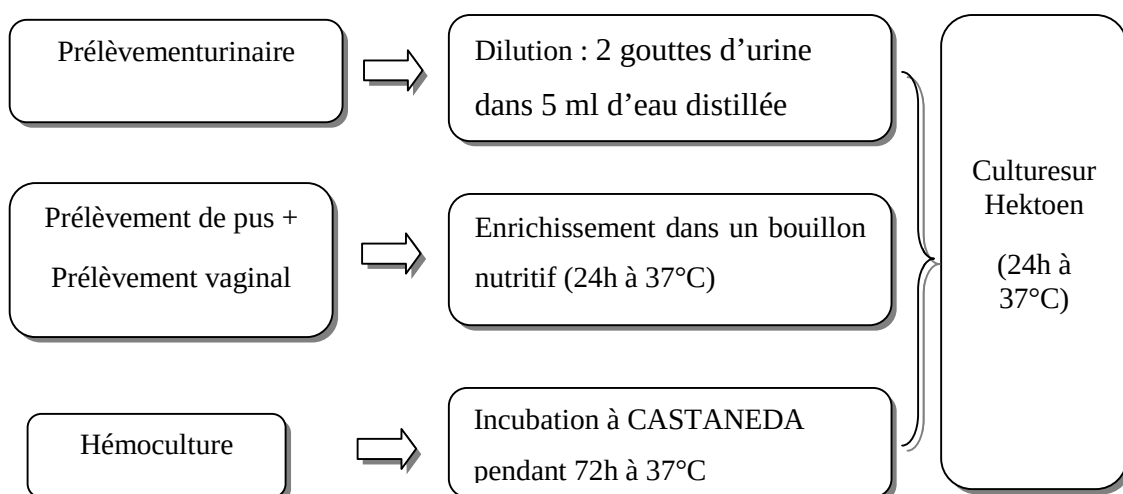
Etuve (BIDER)



Les colorants de Gram

Figure 11: Matériel d'étude et colorants de Gram.**4. Méthodes :****4.1. Culture et isolement :**

L'isolement est une méthode qui permet d'obtenir des souches bactériennes pures à partir d'un échantillon poly-microbien (Figure 12).

**Figure 12:** Méthode d'isolement de *Klebsiella spp.* selon la nature des prélèvements.

Les figures 13 et 14 présentent la méthode d'ensemencement et l'aspect des colonies après incubation.

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

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



Figure 13: L'ensemencement sur le milieu Hektoen par la méthode de stries.

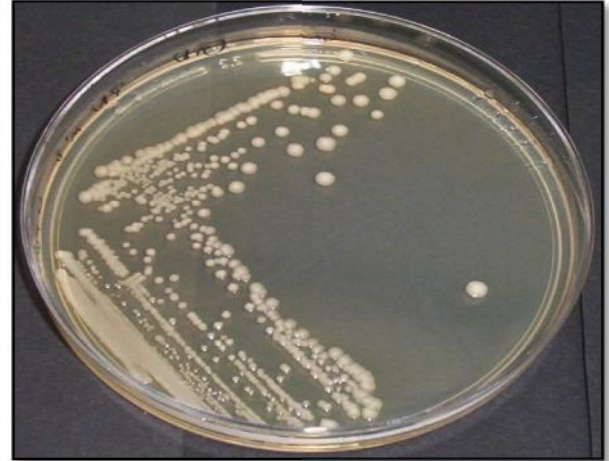


Figure 14: Colonies de *Klebsiella* spp. sur milieu Hektoen dans l'hôpital.

4.2. Identification :

4.2.1. Identification macroscopique :

Avec l'œil nu les colonies de *Klebsiella* spp. sont de grande taille, muqueuses, comme une goutte de miel et sans odeur (Avril et al, 1992).

4.2.2. Identification microscopique :

L'examen à l'état frais :

L'examen à l'état frais est une technique qui permet l'observation des bactéries vivantes entre lame et lamelle à l'objectif x40, le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi le type de mobilité (Joffin et leyrat, 2006). L'observation est réalisée comme suite :

- Déposer une petite goutte d'eau physiologique sur une lame à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Prélever une partie d'une colonie bactérienne pure avec l'anse de platine et la dissocier avec la goutte d'eau physiologique sur la lame.

-Appliquer une lamelle stérile sur la goutte en évitant la formation des bulles d'air puis observer au microscope optique à l'objectif x40.

Coloration de Gram :

Le protocole est réalisé selon les étapes suivantes :

-Entre lame et lamelle, mettre une goutte d'échantillon avec une goutte d'eau distillée et bien mélanger.

-Sécher par bec benzène.

-Mettre le violet de Gentiane 2 minutes puis laver.

-Mettre le Lugol une minute puis laver.

-Mettre l'alcool 45 secondes puis laver.

-Mettre le Fushine 2 minutes puis laver.

-Laisser la lame à sécher.

-Observer au microscope à l'objectif x100.

Les cellules de *Klebsiella spp.* apparaissent en rouge ou rose donc elles sont des Gram négatives.

4.2.3. Identification biochimique :

L'identification biochimique est basée sur les caractères biochimiques, les tests utilisés à l'hôpital de Mila sont cités dans le Tableau 09:

Tableau 09 : Identification biochimique de *Klebsiella* spp.

Les milieux	La méthode	Résultat
TSI	Ensemencement par piqure centrale et incubation (24h à 37°C)	Pente jaune fermentation du lactose et saccharose culot jaune fermentation du glucose.
Citrate de Simmons	Ensemencement et incubation (24h à 37°C)	Coloration bleu du milieu et croissance sur la pente : utilisation de citrate
Mannitol-Mobilité	Ensemencement par piqure centrale, incubation (24h à 37°C)	Aucun changement : les souches sont immobiles
Indole	Ensemencer, incubé (24h à 37°C) et ajouter le réactif de KOVACS	Anneau rouge à la surface donc production d'indole
Urée-indole	Ensemencement et incubation (24h à 37°C)	Couleur rouge : présence d'uréase
Clark and Lubs	Ensemencement (24h à 37°C). Séparation du milieu en 2 : 1- ajouter le RM 2- ajouter le VP	1- Couleur jaune : RM ⁻ . 2- Couleur rouge cerise : VP ⁺
ONPG	Faire une suspension dense en eau distillée stérile, déposer un disque imprégné d'ONPG et incubé (24h à 37°C)	ONPG ⁺ : une coloration jaune traduit l'hydrolyse de l'ONPG

Les figures de 15 à 21 présentent les résultats de l'identification biochimique de *Klebsiella* spp.



Figure 15: Aspect du milieu TSI



Figure 16: Aspect du test ONPG positif



Figure 17 : Aspect du milieu citrate de Simmons



Figure 18: Aspect du test positif d'indole avec *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 19: Aspect du test VP positif avec *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 20 : Aspect du test RM négatif avec *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 21: Aspect du test positif du test Uréase avec *Klebsiella pneumoniae*.

4.3. Teste de l'antibiogramme:

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle: résistant, sensible, intermédiaire, ou indéterminée (Figure 22) (Arafa, 2011).

La méthode de diffusion ou l'antibiogramme standard est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic, des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu Muller-Hinton.

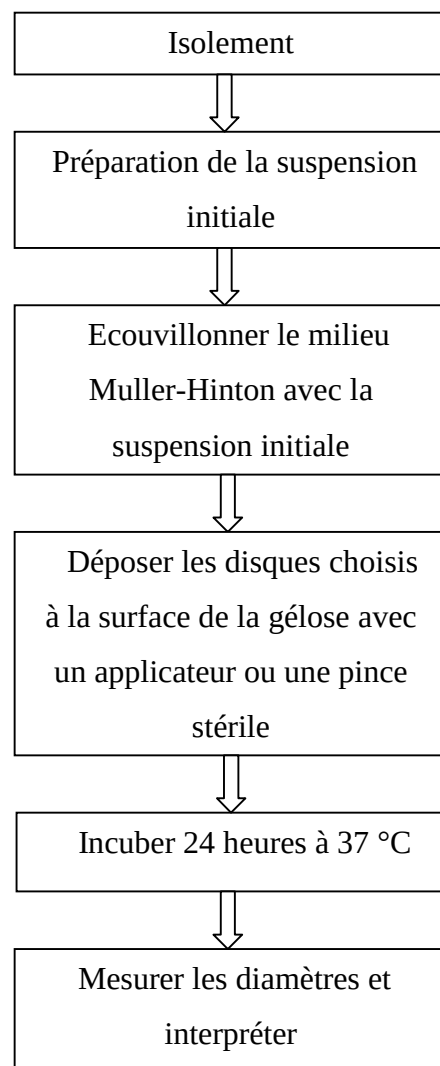


Figure 22: Schéma d'un antibiogramme par la méthode des disques (Joffin et Leyral, 2006).

Le tableau 10 résume les principaux disques d'antibiotiques utilisés à l'hôpital de Mila pour le test d'antibiogramme.

Tableau 10: Principaux disques d'antibiotiques utilisés dans le test de l'antibiogramme à l'hôpital de Mila.

Familles	Antibiotiques	Charge du disque (µg)
β-lactamines	Amoxicilline (AMX)	25
	Ampicilline (AM)	10
	Amoxicilline + Ac. Clavulanique (AMC)	30
	Imipénème (IPM)	10
	Oxacilline (OX)	5
	Pénicilline G (P)	6
	Pipéracilline (PIP)	75
	Céfotaxime (CTX)	30
	Céfazoline (CZ)	30
Aminosides	Gentamycine (GM)	10
	Amikacine (AN)	6
Quinolones	Acide nalidixique (NA)	30
	Ciprofloxacine (CIP)	5
	Norfloxacine (NOR)	5
Sulfamides	Cotrimoxasole (SXT)	25
Macrolides	Lincomycine (L)	15
	Erytromycine (ERY)	15
	Clindamycine (CM)	2
	Spiramycine (SP)	100
Autres	Fosfomycine (FOS)	50
	Colestine (CS)	50

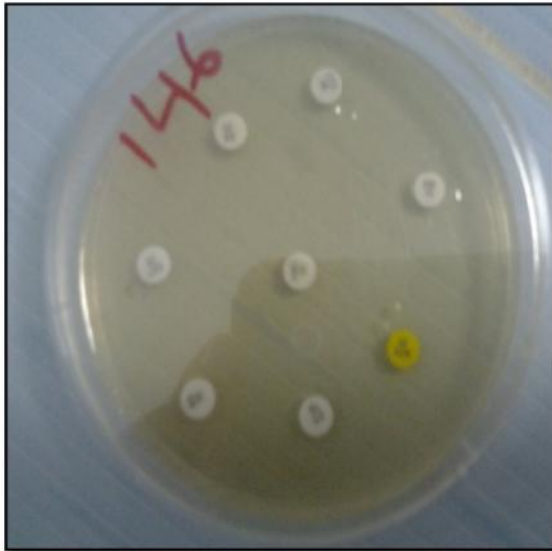


Figure 23: Position des disques du teste del'antibiogramme.

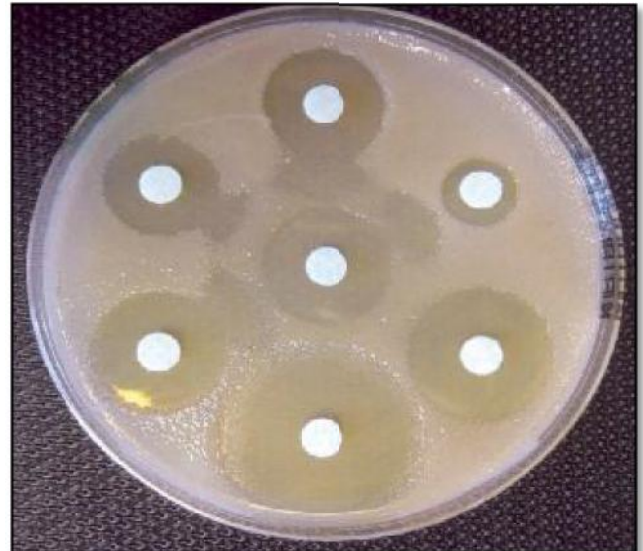


Figure 24: Résultat de l'antibiogramme.

5. Analyse statistique :

L'utilisation du Logiciel XLSTAT 2008 nous a permis de construire l'Analyse en Composantes Principales (ACP) pour les 8 antibiotiques les plus utilisés à l'hôpital de Mila de 2007 à 2012. Les variables étudiées dans cette analyse sont les années d'étude et l'incidence de la résistance aux antibiotiques.

Résultats et discussion:

1. Incidence de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila:

De Février 2007 à juin 2013, 174 souches de *Klebsiella spp.* ont été recueillies, parmi elles 16 d'origine hospitalières, 32 externes et 126 souches de sources inconnues. Ces résultats ont montré une prédominance des souches communautaires par rapport aux souches hospitalières. Contrairement au résultat d'une étude réalisée au centre hospitalier universitaire à Constantine qui a trouvé que 158 étaient des souches hospitalières et 12 externes (Arafa, 2011). Faucher et Avril (2002) ont rapportés que les infections à *Klebsiella spp.* sont prédominantes en milieu hospitalier qu'en milieu externe.

2. Incidence de *Klebsiella spp.* selon le sexe :

Tableau 11 : Incidence de *Klebsiella spp.* selon le sexe à l'hôpital de Mila de 2007 à 2013.

Sexe	Nombre de souches	Pourcentage
Femmes	127	72.98 %
Hommes	47	27.01 %
Totale	174	100 %

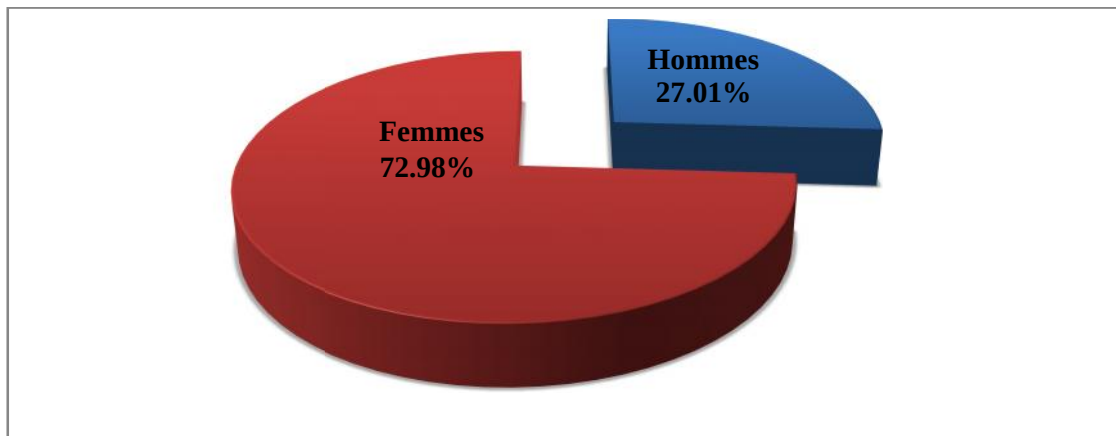


Figure 25: Incidence globale de *Klebsiella spp.* selon le sexe.

Il a été trouvé que 72.98% des patients infectés par *Klebsiella spp.* étaient des femmes contre 27.01% des hommes (Tableau 11; Figure 25). Nos résultats concordent avec ceux de Ben Haj Khalifa et Khedher (2010), ils ont expliqué que la fréquence élevée de l'infection à *Klebsiella spp.* chez les femmes est due à des facteurs favorisants spécifiques particulièrement la grossesse.

3.Incidencede *Klebsiella spp.*selon la nature du prélèvement :

Tableau 12:Incidence de *Klebsiella spp.*selon la nature de prélèvement à l'hôpital de Mila.

Prélèvements	Nombre de souches	Pourcentage
Prélèvement urinaire	94	64.38 %
Prélèvement de pus	21	14.38 %
Prélèvement vaginale	27	18.49 %
Hémoculture	4	2.73 %
Totale	146	100%

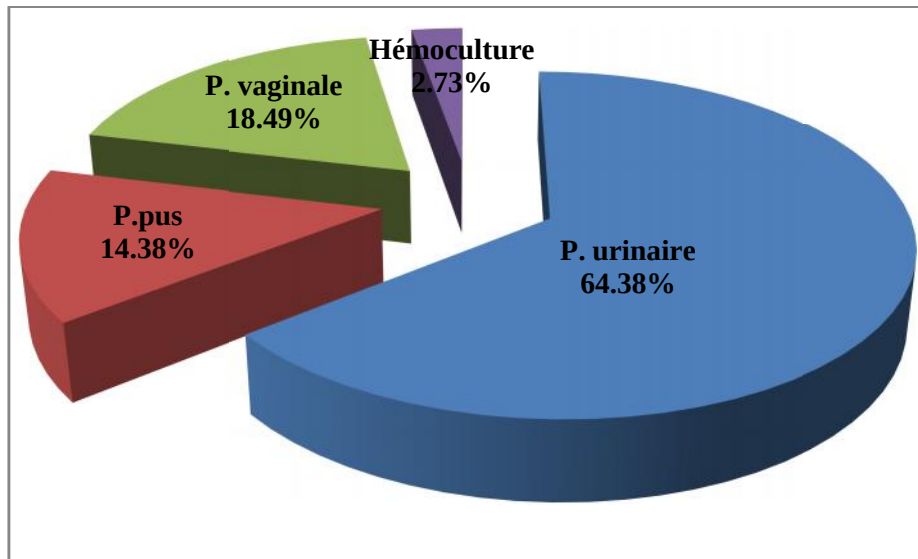


Figure 26:Incidence de *Klebsiella spp.*selonla nature de prélèvements.

Sur les 174 souches de *Klebsiella spp.* isolées 64.38% étaient issues des prélèvements urinaires, 18.49% des prélèvements vaginaux, 14.38% des prélèvements de pus et 2.73% d'hémocultures (Tableau 12 ; Figure 26). Dans notre étude les sources les plus importantes ont été l'infection des voies urinaires, conformément à une étude espagnole d'Ortega et al, (2011) où les prélèvements urinaires sont toujours dominants (281 cas, 31%). Aussi il a été montré que *Klebsiella spp.* possède un antigène O5 essentiel pour la résistance au sérum et pour l'adhérence sur les cellules uroépithéliales (Podschun et Ullmann, 1998 ; Sylvain et al, 2006).

Le taux le plus faible était enregistré dans les hémocultures (2.73 %) (Figure 26) *Klebsiella spp.* est la cause majeure de bactériémie et l'incidence de bactériémie causée

par *Klebsiella spp.* a augmenté progressivement dans les dernières années (Ortega et al, 2011). Nos résultats sont similaires à ceux de Linares et al,(2010) qui ont trouvés que les principaux sites d'infection étaient 72 % des voies urinaires et seulement 1% des infections de la circulation sanguine.

4. Incidence de *Klebsiella spp.* selon le service hospitalier:

Tableau 13 :Incidence de *Klebsiella spp.* selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila l'année 2012.

Services	Nombre de souches	Pourcentage
Médecine interne	3	18.75 %
Pédiatrie	7	43.75 %
Chirurgie	4	25 %
Gynécologie	2	12.5 %
Totale	16	100%

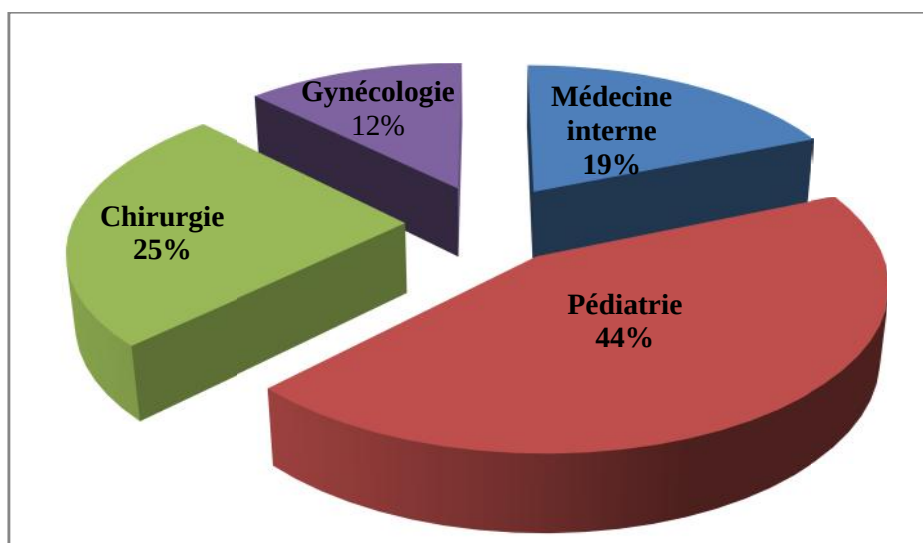


Figure 27:Incidence de *Klebsiella spp.* selon le service hospitalier à l'hôpital de Mila.

La répartition des souches selon le service d'hospitalisation montre que le service de pédiatrie enregistre le taux le plus important de souches de *Klebsiella spp.* isolées avec une fréquence de 43,75%, suivi par le service de chirurgie avec une fréquence de 25 %, la fréquence la plus faible était remarquée dans le service gynécologie (12.5%) (Tableau 13 ; Figure 27).

Les malades s'infectent soit avec leurs propres souches de *Klebsiella* spp. soit avec des souches responsables de petites épidémies hospitalières (Avril et al, 1992). D'autre part, *Klebsiella* spp. est un agent pathogène opportuniste qui provoque souvent des infections chez les personnes immunodéprimées suite à des actes chirurgicaux lourds (Richard et Grimont, 1992 ; Diallo, 2010).

Le taux élevé enregistré dans le service de pédiatrie est similaire à celle de Podschun et Ullmann, (1998) qui ont rapporté que *Klebsiella* spp. sont souvent des agents pathogènes causants des infections néonatales et particulièrement chez les nourrissons prématurés

5. Antibiorésistance de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila :

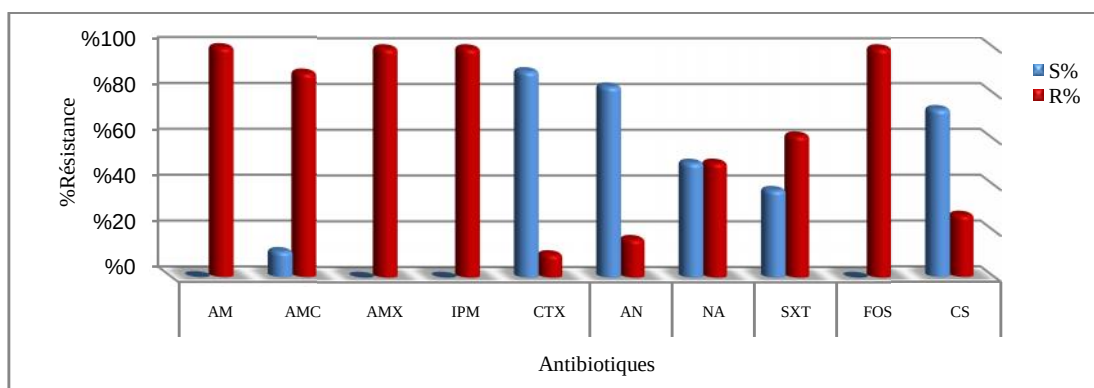
La résistance aux antibiotiques chez les souches de *Klebsiella* spp. a été étudiée pour chaque année depuis 2007 jusqu'à 2013, ensuite la résistance totale a été étudiée pour toutes les années.

5.1. Antibiorésistance des souches de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila en 2007 :

Tableau 14: Antibiorésistance de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila en 2007

Familles	β-lactamines					Aminosides	Quinolones	Sulfamides	Autres	
ATB	AM	AMC	AMX	IPM	CTX	AN	NA	SXT	FOS	CS
%R	100	88,88	100	100	10	16,66	50	61,90	100	26,92
%S	0	11,11	0	0	90	83	50	38,09	0	73,07

AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, AMX : Amoxicilline, IPM : Imipénème, CTX : Céfotaxime, AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, FOS : Fosfomycine, CS : Colestine.



AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, AMX : Amoxicilline, IPM : Imipénème, CTX : Céfotaxime

AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, FOS : Fosfomycine, CS : Colestine.

Figure 28: Antibiorésistance de *Klebsiella* spp. isolées à l'hôpital de Mila en 2007.

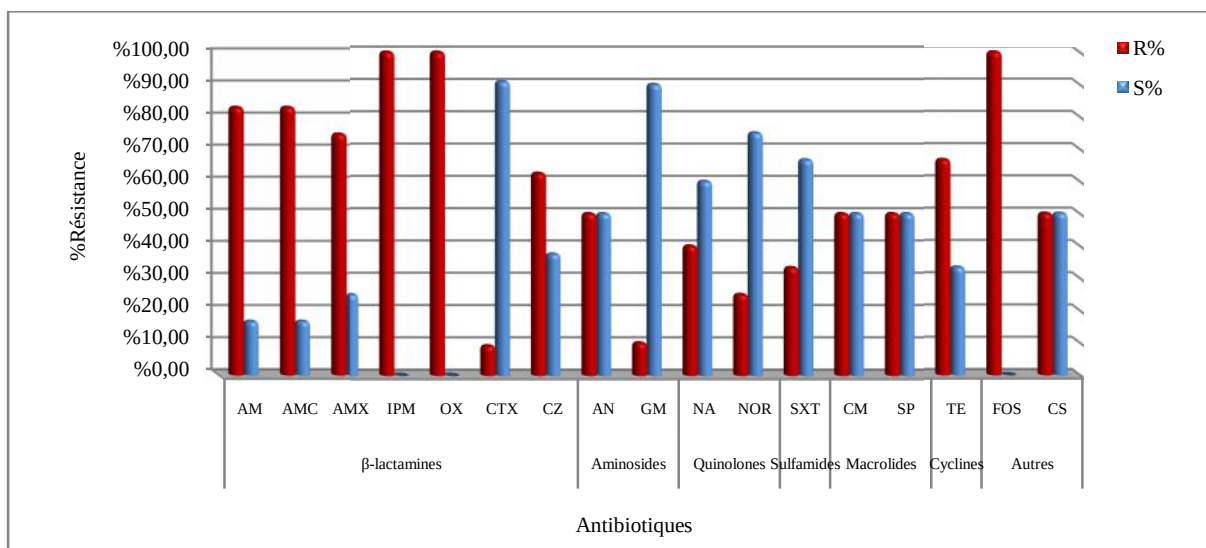
En 2007 les taux les plus élevés de la résistance chez (48) isolats de *Klebsiella spp.* étaient à des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Ampicilline 100%, Amoxicilline 100%, Imipénème, 100% et Amoxicilline+ Acide Clavulanique 88.88%, cependant la résistance la plus faible était enregistrée avec le Céfotaxime (10%). Aussi, tous les isolats étaient résistants à la Fosfomycine, concernant les autres antibiotiques, le Colestine enregistre un faible taux de la résistance 26.96% avec 16.66% de la résistance à l'Amikacine (Tableau 14 ; Figure 28).

5.2. Antibiorésistance des souches de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2008 :

Tableau 15: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2008.

Familles	β -lactamines							Aminosides		Quinolones		Sulfamides	Macrolides		Cyclines	Autres	
ATB	AM	AMC	AMX	IPM	OX	CTX	CZ	AN	GM	NA	NOR	SXT	CM	SP	TE	FOS	CS
%R	83,33	83,33	75	100	100	9	62,50	50	10	40	25	33,33	50	50	66,66	100	50
%S	16,66	16,66	25	0	0	90,90	37,50	50	90	60	75	66,66	50	50	33,33	0	50

AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, AMX : Amoxicilline, IPM : Imipénème, OX :Oxacilline, CTX : Céfotaxime, AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT :Cotrimoxazole, FOS :Fosfomycine, CZ :Céfazoline, GM :Gentamycine, NOR : Norfloxacin, CM : Clindamycine, SP : Spéramycine, TE : Tétracycline, CS :Colestine.



AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, AMX : Amoxicilline, IPM : Imipénème, OX :Oxacilline, CTX : Céfotaxime, AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT :Cotrimoxazole, FOS :Fosfomycine, CZ :Céfazoline, GM :Gentamycine, NOR : Norfloxacin, CM : Clindamycine, SP : Spéramycine, TE : Tétracycline, CS :Colestine.

Figure 29: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2008.

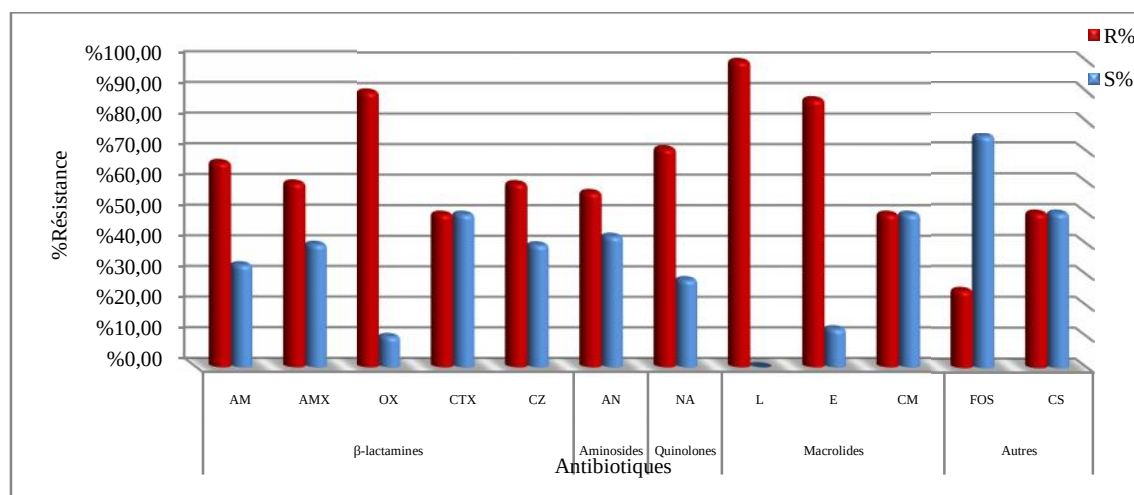
En 2008, toutes les souches (25) étaient résistantes à l'Imipénème, l'Oxacilline et au Fosfomycine (100%). La plupart des isolats étaient résistants à l'Ampicilline (83.33%), à l'Amoxicilline+ Acide Clavulanique (83.33%) et l'Amoxicilline (75%). Les taux de résistances les plus faibles étaient ceux de Norfloxacin (25%), Gentamycine (10%) et Céfotaxime (9%) (Tableau 15 ; Figure 29).

5.3. Antibiorésistance des souches de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2009 :

Tableau 16: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2009.

Familles	β-lactamines					Aminosides	Quinolones		Macrolides		Autres	
ATB	AM	AMX	OX	CTX	CZ	AN	NA	L	E	CM	FOS	CS
%R	66,66	60	90	50	60	57,10	71,42	100	87,50	50	25	50
%S	33,33	40	10	50	40	42,80	28,57	0	12,50	50	75	50

AM :Ampicilline,AMX :Amoxicilline,OX :Oxacilline,CTX : Céfotaxime, CZ :Céfazoline,AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, L :Lincomycine, E :Erythromycine,CM :Clindamycine, FOS :Fosfomycine, CS :Colectine.



AM :Ampicilline,AMX :Amoxicilline,OX :Oxacilline,CTX : Céfotaxime, CZ :Céfazoline,AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, L : Lincomycine, E :Erythromycine,CM : Clindamycine, FOS :Fosfomycine, CS :Colectine.

Figure30: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2009.

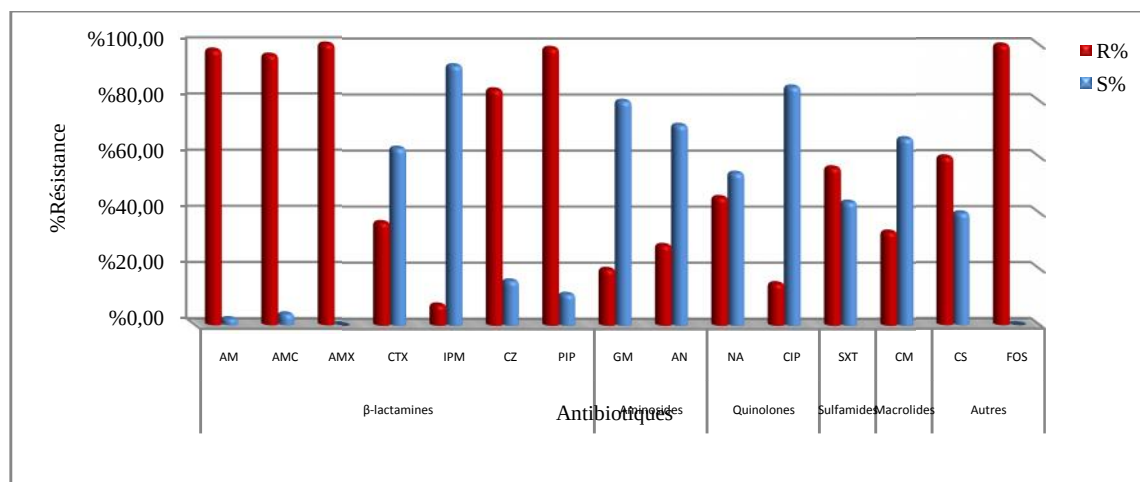
Toutes les souches isolées en 2009 (24) étaient résistantes au Lincomycine de la famille de Macrolides. La résistance à l'Oxacilline, l'Erythromycine, et l'Acide Nalidixique étaient respectivement de 90%, 87.5% et 71.42%. Le plus faible taux de résistance était remarqué avec la Fosfomycine (25%) (Tableau 16 ; Figure 30).

5.4. Antibiorésistance des souches de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2012 :

Tableau 17: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2012.

Familles	β -lactamines							Aminosides		Quinolones		Sulfamides	Macrolides	Autres	
ATB	AM	AMC	AMX	CTX	IPM	CZ	PIP	GM	AN	NA	CIP	SXT	CM	CS	FOS
%R	97,87	96	100	36,73	7,31	84	98,88	20	29	45,65	14,89	56,25	33,33	60	100
%S	2,21	3,92	0	63,26	92,68	15,90	11,11	80	71	54,31	85,10	44,00	66,66	40	0

AM :Ampicilline, **AMC** :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, **AMX** :Amoxicilline, **CTX** : Céfotaxime, **IPM** : Imipénème, **CZ** :Céfazoline, **PIP** : Pipéracilline, **GM** :Gentamycine, **AN** : Amikacine, **NA** : Acide Nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** :Cotrimoxazole, **CM** : Clindamycine, **CS** :Colectine, **FOS** :Fosfomycine.



AM :Ampicilline, **AMC** :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, **AMX** :Amoxicilline, **CTX** : Céfotaxime, **IPM** : Imipénème, **CZ** :Céfazoline, **PIP** : Pipéracilline, **GM** :Gentamycine, **AN** : Amikacine, **NA** : Acide Nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** :Cotrimoxazole, **CM** : Clindamycine, **CS** :Colectine, **FOS** :Fosfomycine.

Figure 31: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2012.

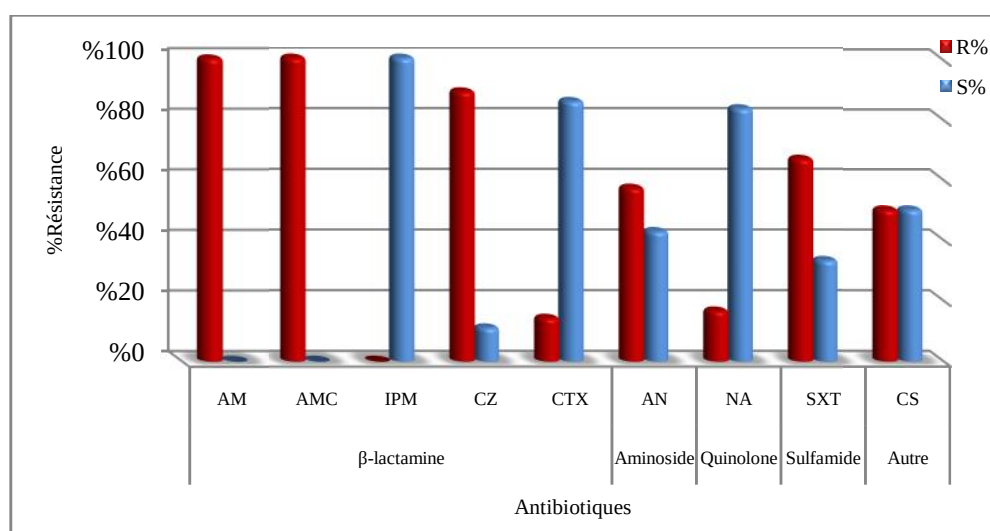
En 2012 nous avons trouvés que les 64 isolats étaient résistants à 100% à l'Amoxicilline et au Fosfomycine. La résistance la plus élevée de *Klebsiella spp.* étaient observée avec Pipéracilline (98%), l'Ampicilline (97.87%), Amoxicilline+ Acide Clavulanique (96%) et le Céfazoline (84%). Cependant la résistance la plus faible était constatée chez Gentamycine (20%), Ciprofloxacine (14.89%) et l'Imipénème (7.31%) (Tableau 17 ; Figure 31).

5.5. Antibiorésistance des souches de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2013 :

Tableau 18: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2013.

Familles	β-lactamines					Aminosides	Quinolones	Sulfamides	Autres
ATB	AM	AMC	IPM	CZ	CTX	AN	NA	SXT	CS
%R	100	100	0	88,88	14,28	57,14	16,66	66,66	50
%S	0	0	100	11,11	85,71	42,85	83,33	33,33	50

AM :Ampicilline, **AMC** :Amoxicilline+ Acide Clavulanique,**AMX** :Amoxicilline, **IPM** : Imipénème,**CZ** : Céfazoline,**CTX** : Céfotaxime
AN : Amikacine, **NA** : Acide Nalidixique,**CS** :Colectine.



AM :Ampicilline, **AMC** :Amoxicilline+ Acide Clavulanique,**AMX** :Amoxicilline, **IPM** : Imipénème,**CZ** : Céfazoline,**CTX** : Céfotaxime
AN : Amikacine, **NA** : Acide Nalidixique,**CS** :Colectine.

Figure 32: Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila en 2013.

Les dix isolats de *Klebsiella spp.* étaient résistants à 100 % à Ampicilline et Amoxicilline+ Acide Clavulanique, par contre ils étaient tous sensibles à l'Imipénème. Quant à la résistance à Céfazoline, elle était de 88.88%. Cependant, la résistance faible de l'ordre de 16.66% et 14.28% à Céfotaxime et Amikacine respectivement (Tableau 18 ; Figure 32).

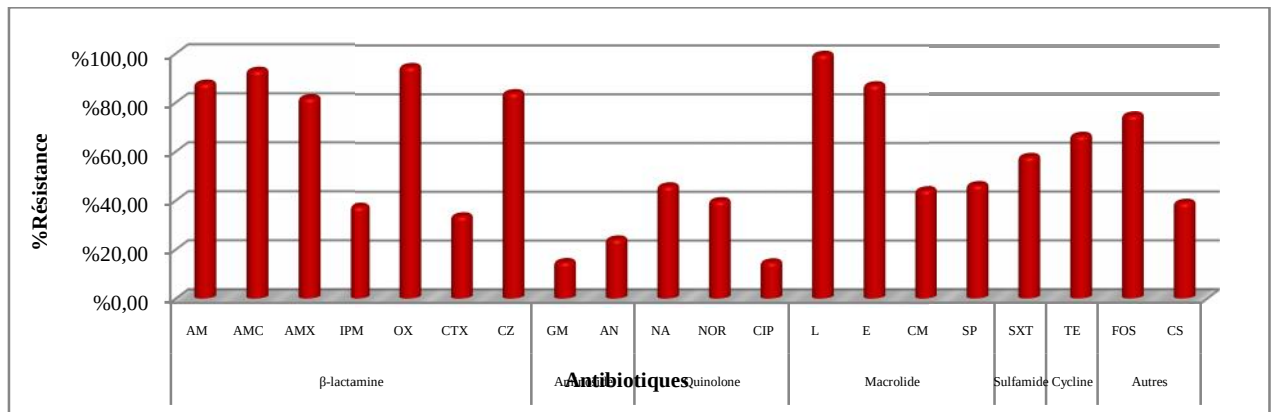
La résistance totale aux antibiotiques de *Klebsiella spp.* a été étudiée pour les 5 ans. Vingt antibiotiques les plus testés ont été étudiés (Tableau 19 ; Figure 33).

5.6. Antibiorésistance totale de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila durant 5 ans :

Tableau 19 : Antibiorésistance totale des souches de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila pendant 5 ans.

Familles	β-lactamines							Aminosides		Quinolones			Macrolides				Sulfamides	Tétracyclines	Autres	
ATB	AM	AMC	AMX	IPM	OX	CTX	CZ	GM	AN	NA	NOR	CIP	L	E	CM	SP	SXT	TE	FOS	CS
R %	87,75	93	81,81	37,68	95	33,76	84,28	15	24,28	46,05	40	14,89	100	87,50	44,44	46,44	58,02	66,66	75	39,21

AM :Ampicilline, **AMC :**Amoxicilline+ Acide Clavulanique, **AMX :**Amoxicilline, **IPM :** Imipénème, **OX :** Oxacilline
CTX :Céfotaxime,**CZ :**Céfazoline, **GM :**Gentamycine, **AN :** Amikacine, **NA :** Acide Nalidixique,**NOR :**Norfloxacine,**CIP :**
Ciprofloxacine, **L :** Lincomycine, **E :** Erytromycine , **CM :** Clindamycine, **SP :**Spéramycine , **SXT :**Cotrimoxazole, **TE :**
Tétracycline, **FOS :**Fosfomycine,**CS :**Colectine.



AM :Ampicilline, **AMC :**Amoxicilline+ Acide Clavulanique, **AMX :**Amoxicilline, **IPM :** Imipénème, **OX :** Oxacilline **CTX :**
Céfotaxime,**CZ :**Céfazoline, **GM :**Gentamycine, **AN :** Amikacine, **NA :** Acide Nalidixique,**NOR :**Norfloxacine,**CIP :** Ciprofloxacine,
L : Lincomycine, **E :** Erytromycine, **CM :** Clindamycine, **SP :** Spéramycine, **SXT :**Cotrimoxazole, **TE :** Tétracycline,
FOS :Fosfomycine,**CS :**Colectine.

Figure 33 : Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila durant 5 ans.

De Février 2007 à Juin 2013, 174 souches de *Klebsiella spp.* étaient isolées et testées pour la résistance aux antibiotiques (Figure 31). Les β-lactamines ont montré des pourcentages de résistance élevés allant jusqu'à 95% pour l'Oxacilline et 37.68% pour l'Imipénème.

Le Céfotaxime enregistre le pourcentage le plus faible parmi les β -lactamines de l'ordre de 33,76%. Dans la famille des Macrolides, la résistance était totale pour le Lincomycine (100%) et de 44,44% pour le Colectine. La Fosfomycine a enregistré 75% de résistance, la Tétracycline 66,66% et Cotrimoxazole 58,02% (Tableau 19 ; Figure 33).

Il a été remarqué que les Quinolones (Ciprofloxacine 14,89%, Norfloxacine 40%, Acide Nalidixique 46,05%) et les Aminosides (Gentamicine 15% et Amikacine 24,28%) ont montré les taux les plus faibles de résistance (Tableau 19 ; Figure 33).

Selon nos résultats, *Klebsiella spp.* est résistante à des taux élevés à l'Ampicilline et à l'Amoxicilline 87,75% ; 81,81% respectivement. Ce résultat est confirmé par les données de la littérature qui ont rapportés que *Klebsiella spp.* à une résistance naturelle à l'Ampicilline (Avril et al, 1992 ; Arafa et al, 2009).

La résistance à l'association Amoxicilline+Ac.Clavulanique (AMC) (93%) et au Céfazoline (CZ) (84,28%) était plus faible que chez l'Ampicilline et à l'Amoxicilline, mais reste tout de même très élevée. Cette diminution de la résistance est due à l'effet des inhibiteurs des β -lactamases qui améliorent l'action de ces antibiotiques pour des taux de résistance bien plus faibles (Arafa et al, 2009). Les taux élevés de la résistance aux β -lactamines est peut être due à la production des β -lactamases. Ces enzymes hydrolytiques perturbent la liaison amide du cycle β -lactamines à quatre chaînons caractéristiques, ce qui rend l'agent antimicrobien inefficace (Poole, 2004).

Notre étude montre des taux de résistance faible pour le Céfotaxime (33,76%) (Tableau 19 ; Figure 33). *Klebsiella spp.* est naturellement sensible aux Céphalosporines. Des enzymes récemment caractérisées *TEM 3* et *SHV-2*, rendent les souches résistantes à toutes les Céphalosporines (excepté les Céphamycines) (Avril et al, 1992). D'autre part, Helen et al, (2009) ont rapporté que des β -lactamases de type CTX-M-68 conféraient de la résistance au Céfotaxime, mais pas la Céfotazidime.

Nos résultats ont montré un taux de résistance de 37,68 % à l'Imipénème qui a été testé 69 fois durant les 5 ans, ce qui est inhabituel et trop élevé par rapport aux résultats de Jaffar et al, (2007) et Vinod et al, (2011) sur des souches de *K. pneumoniae*, aussi Ben Haj Khalifa et Khedher (2010) sur des isolats de *Klebsiella spp.* qui ont tous trouvés que tous les isolats testés étaient sensibles à l'Imipénème. Ling Ma et al, (2009) ont remarqué aussi

que seulement cinq isolats (2,1%) étaient résistants à l'Imipénème, cela vraisemblablement est due à un manque de β -lactamase qui hydrolyse les Carbapénèmes ou Carbapénémase (Vinod et al, 2011). Le taux élevé de la résistance à l'Imipénème trouvé dans nos résultats peut être due à un excès de β -lactamase Carbapénémase ainsi que des Oxacillinasés ayant une activité contre les Carbapénèmes (Imipénème) (Gaëlle et al, 2010).

D'autre part des résultats similaires à nos résultats ont été obtenus par Vatopoulos (2008) en Grèce qui a montré que la proportion de *K. pneumoniae* résistante à l'Imipénème passait de moins de 1% en 2001 à 20% des isolats provenant des services hospitaliers et 50% dans les isolats de soins intensifs en 2006 semble être dû à la propagation de la cassette *blaVIM-1* grâce à l'évolution rapide des plasmides multi-résistants chez les souches de *K. pneumoniae*. Pour la famille des Aminoglycosides, des pourcentages faibles de la résistance (Amikacine 24,28% et Gentamicine 15%) ont été trouvés (Tableau 19; Figure 33). Ces résultats sont inférieurs à ceux trouvés par Ling Ma et al, (2009) (Gentamicine 91,1% et Amikacine 54,9%) et Gaëlle et al, (2010) (Amikacine 81,3% et Gentamicine 75%). En Algérie, Arafa et al, (2009) ont observé une résistance assez marquée pour la Gentamicine (67%), alors que Jaffar et al, (2007) en Arabie Saoudite ont trouvé une résistance faible à l'Amikacine (0% à 2,3%).

Habituellement, la résistance aux Aminoglycosides est due à la présence des enzymes modifiantes des Aminoglycosides (*aac(3)-II* et *aac(6')-Ib*), qui sont censés avoir une activité élevée contre l'Amikacine et la Gentamicine (Ling Ma et al, 2009). La résistance à cette famille est due aussi aux méthylases agissant sur l'ARNr 16S, codées par des gènes plasmidiques (*armA* et *rmtB*) qui sont capables de conférer une résistance à haut niveau aux Aminoglycosides souvent en association avec les BLSE et les Carbapénémases (Ling Ma et al, 2009; Bjørg et al, 2014). Onishi et al, (2014) ont montré que le plasmide *pKPN5* dans *K. pneumoniae* joue un rôle important dans la résistance contre les Aminoglycosides. Bjørg et al, (2014) ont indiqué que la grande proportion de souches productrices de BLSE résistantes aux Aminoglycosides soutient l'idée que la prévalence croissante de la résistance aux Aminoglycosides est en partie associée à l'augmentation de la prévalence de BLSE. Pour la famille des Quinolones, le taux de la résistance de *Klebsiella spp.* isolées à l'hôpital de Mila à Ciprofloxacine était de 14,89%, 40% à la Norfloxacine et 46,05% à l'Acide Nalidixique (Tableau 19; Figure 33). La situation épidémiologique mondiale de la résistance de *Klebsiella spp.* aux Quinolones est très variable. Elle était de 10 % à Tawain, 33 % au Maroc, 28 % au Liban et 10% en Corée (Jaffar et al, 2007; Ben haj khalifa et

Khedher, 2010). Dans des autres études la résistance à la Ciprofloxacine était plus élevée et a atteint 59,1% dans les travaux de Ling Ma et al, (2009) et 81,5% obtenue par Gaëlle et al, (2010). *Klebsiella spp.* est naturellement sensible aux Quinolones. L'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine a fait augmenter la résistance de *Klebsiella spp.* aux Quinolones au cours de la dernière décennie (Tlami et al, 2009).

Les déterminants plasmidique de la résistance aux Quinolones (PMQR) ont ajouté une nouvelle dimension dans la résistance aux Quinolones. Ces déterminants transférables comprennent: les protéines QNR (*QnrA*, *QnrB*, *QnrS*, *QnrC*, et *QnrD*) qui protègent l'ADN gyrase et la topoisomérase IV de l'action des Quinolones, l'enzyme *Aac (6')-Ib-cr* est une Aminoglycosideacétyltransférase, capable d'acétyler la Ciprofloxacine et la Norfloxacine, en réduisant ensuite leur activité (Figure 08) et une protéine spécifique du pompe d'efflux des Quinolones (*QepA*) impliqué dans le pompage des Quinolones hors les cellules bactériennes (Tlami et al, 2009; Karah et al, 2010). Aussi des mutations dans QRDR (dans *gyrA* et dans *parC*) ont été trouvées dans certains des isolats résistants à l'Acide Nalidixique et la Ciprofloxacine (Karah et al, 2010; Pérez-Moreno et al, 2011).

Nos résultats ont montré des taux de résistance aux Macrolides variant de 44.44% pour la Clindamycine à 100% pour la Lincomycine. Les Macrolides ne sont pas actifs contre la plupart des entérobactéries. La résistance aux Macrolides est due soit à une diminution de la perméabilité de l'antibiotique à travers l'enveloppe cellulaire, une production d'une enzyme méthylase qui modifie la cible ribosomale ce qui réduit la liaison des Macrolides aux ribosomes, ou par production des estérases qui hydrolysent les Macrolides (Fayaiz et al, 2002).

La résistance à l'Erytromycine dans nos résultats était 87,50%. Cela est similaire aux résultats de Ritchie et al, (1993) qui ont déclaré que *Klebsiella pneumoniae* est très résistante à l'Erythromycine (86%), ils ont montré que cette résistance a deux origines chromosomique et plasmidique (Fayaiz et al, 2002).

Le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital a enregistré 58.02% de *Klebsiella spp.* résistantes au Cotrimoxazole. Vinod et al, (2011) ont déterminé parmi les séquences complètes du génome de *K. pneumoniae* un gène *sul1* codant pour la protéine de la résistance aux Sulfamides.

5.7. Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella spp.*:

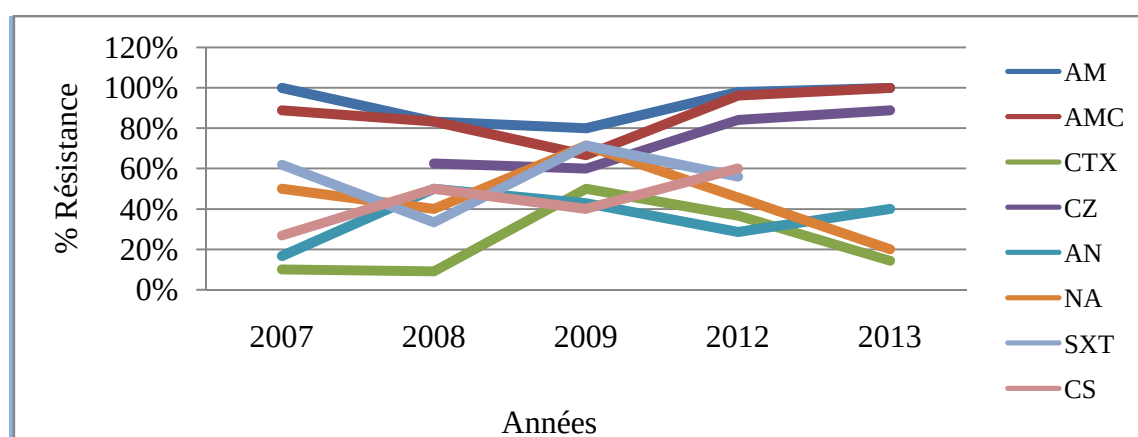
L'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella spp.* a été étudiée.

Les résultats sont représentés dans le (Tableau 20 ;Figure 34).

Tableau 20: Evolution de l'antibiorésistance de *Klebsiella spp.* de 2007 à 2013 isolées à l'hôpital de Mila.

Années	β-lactamines				Aminosides	Quinolones	Sulfamides	Autres
	AM	AMC	CTX	CZ	AN	NA	SXT	CS
2007	100%	88,88%	10%	/	16,66%	50%	61,90%	26,92%
2008	83,33%	83,33%	9,09%	62,50%	50%	40%	33,33%	50%
2009	80%	66,66%	50%	60%	42,85%	71,42%	71,42%	40%
2012	97,87%	96,22%	36,73%	84,09%	28,57%	45,65%	56%	60%
2013	100%	100%	14,28%	88,88%	40%	20%	/	/

AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique,CTX : Céfotaxime, CZ : CéfazolineAN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, CS : Colestine.



AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, CTX : Céfotaxime, CZ : CéfazolineAN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, CS : Colestine.

Figure34:Evolution de l'antibiorésistance chez les souches de *Klebsiella spp.*isolées à l'hôpital de Mila entre 2007 et 2013.

Au cours des années de l'étude (2007-2013), la résistance à l'Ampicilline ne subit pas des variations importantes (80%-100%).Pour l'Amoxicilline + Acide Clavulanique,elle diminue de 88.88% en 2007 à 66.66% en 2009, ensuite elle et augmente jusqu'à 100% en 2013.

La résistance au Céfotaxime était 10% en 2007, elle augmente jusqu'à 50% en 2009 puis elle revient à diminuer jusqu'à 14.28% en 2013.

La résistance à l'Acide Nalidixique variait d'une même manière de 50% en 2007 à 71.42% en 2009, et diminue jusqu'à 20% en 2013 (Tableau 20; Figure 34).

L'évolution de la résistance à Céfazoline était en augmentation progressive de 62.5% en 2007 à 88.88% en 2013. De même, une augmentation était aussi observée pour l'Amikacine (16.66% en 2007 à 40% en 2013) et pour le Colestine (de 26.92% en 2007 à 60% en 2012). La résistance à Cotrimoxazole a subi des variations instables pendant les années d'étude (Figure 34).

La diminution de la résistance à l'Amoxicilline + Acide Clavulanique est due à l'inhibition des β -lactamases par l'Acide Clavulanique (Arafa et al, 2009). L'augmentation de la résistance à l'Amoxicilline + Acide Clavulanique dans notre étude est similaire à ceux d'une enquête rétrospective sur la résistance aux antibiotiques réalisée par Pérez-Moreno et al, (2011) en Espagne qui a révélé un taux élevé de diminution de la sensibilité à l'Amoxicilline + Acide Clavulanique (AMC) entre *K. pneumoniae*. Ils ont confirmé que cette augmentation de résistance est principalement due à la propagation simultanée de deux clones différents, l'un représentait un isolat produisant *IRT-11* et les autres un isolat qui avait acquis soit le gène *blaOXA-1* situé dans un intégron de classe I et liée à *qnrS2* ou le gène *blaIRT-11*.

L'augmentation de la résistance au Céfotaxime peut être due à la production des β -lactamases de types CTX-M qui est présente une source de résistance au Céfotaxime (CTX) (Pitout et al, 2004).

L'augmentation observée de la résistance au Céfazoline est due à la diminution de l'effet des inhibiteurs des β -lactamases associées aux β -lactamines qui sont normalement pour rétablir l'action de cet antibiotique (Arafa, 2011).

Une augmentation de la résistance à l'Acide Nalidixique était remarquée au niveau de l'hôpital de Milade 50% à 71.42%. Ce résultat concorde à celui de Ben Haj Khalifa et Khedher (2010) qui ont rapportés que la résistance aux Quinolones a connu ces dernières années une augmentation importante. Aussi, Tlamçani et al, (2009) ont montré que cette augmentation est due à l'utilisation abusive de ces molécules en médecine humaine.

Nos résultats ont montrés une augmentation suivie par une diminution de la résistance à l'Amikacine jusqu'à 20% (Figure 34). Cependant, dans une étude en Norvège sur des isolats cliniques de *Klebsiella spp.* productrices de BLSE, aucune réduction de la sensibilité observé à l'Amikacine. Ça peut donner à penser que cet agent peut être utile pour le traitement des infections causées par des isolats producteurs de BLSE (Björg et al, 2014).

6. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella spp.* :

Matrice de corrélation Pearson (n) est représentée dans le tableau 21.

Tableau 21 : Matrice de corrélation de Pearson (n)

Variables	AM	AMC	CTX	AN	NA	SXT	CS
AM	1	0,848	-0,331	-0,914	-0,442	0,115	-0,105
AMC	0,848	1	-0,460	-0,561	-0,804	-0,366	0,333
CTX	-0,331	-0,460	1	0,177	0,759	0,670	0,287
AN	-0,914	-0,561	0,177	1	0,081	-0,454	0,427
NA	-0,442	-0,804	0,759	0,081	1	0,839	-0,373
SXT	0,115	-0,366	0,670	-0,454	0,839	1	-0,434
CS	-0,105	0,333	0,287	0,427	-0,373	-0,434	1

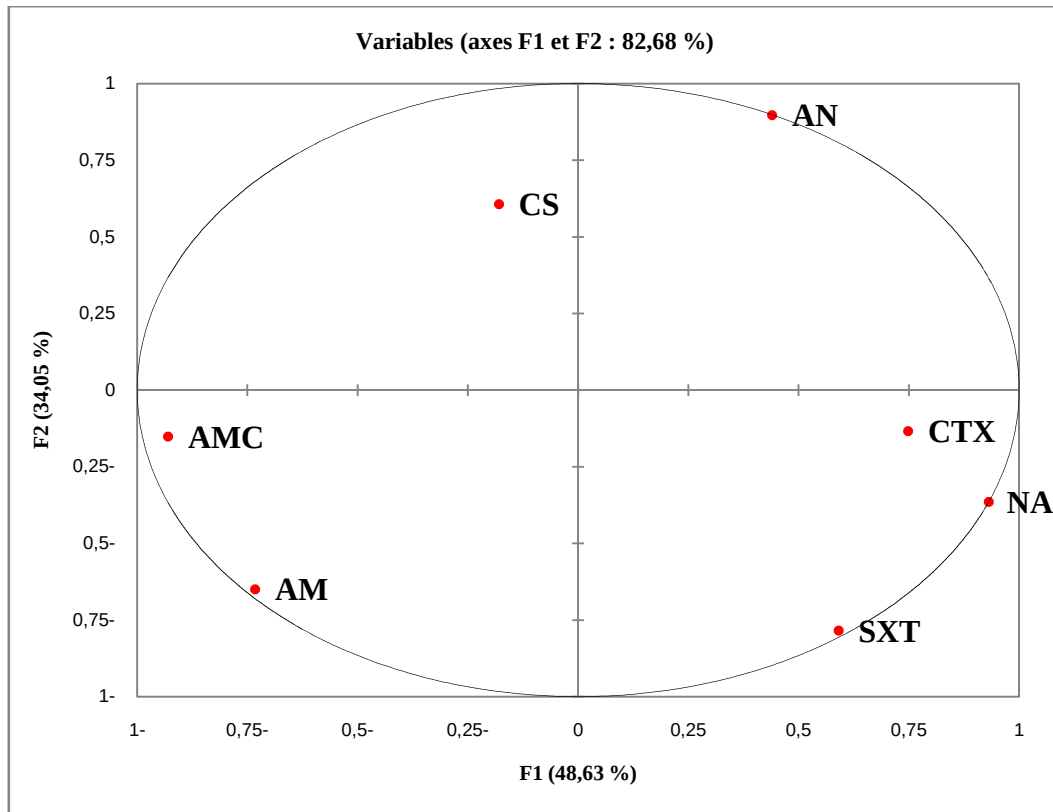
AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, CTX : Céfotaxime, CZ : CéfazolineAN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, CS : Colestine.

Tableau 22 :Vecteurs propres.

	F1	F2
AM	-0,398	-0,420
AMC	-0,504	-0,098
CTX	0,405	-0,086
AN	0,238	0,581
NA	0,505	-0,236
SXT	0,320	-0,508
CS	-0,098	0,393

Tableau 23 :Valeurs propres

	F1	F2
Valeur propre	3,404	2,383
Variabilité (%)	48,629	34,046
% cumulé	48,629	82,675



AM :Ampicilline, AMC :Amoxicilline+ Acide Clavulanique, CTX : Céfotaxime, AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, SXT : Cotrimoxazole, CS : Colestine.

Figure 35 : Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. par ACP à l'hôpital de Mila (Algérie).

Les résultats de l'ACP ont montré que l'AM(Ampicilline) et AMC (Amoxicilline+Acide Clavulanique) ont le même comportement spatial(Figure 35).Avec uncoefficient de corrélation important et positif($r=0.848$), ces deux antibiotiques appartiennent à la même famille des β -lactamines.Poole (2004) a rapporté que les gènes codants pour les β -lactamases sont chromosomiques ou plasmidique, donc les gènes responsables de la résistance à AM et AMC peuvent être portés sur le même chromosome ou le même plasmide, ou peuvent avoir une distance génétiqueréduite. Malgré que le CTX (Céfotaxime) appartient à la famille des β -lactamines, il a montré un comportement spatial différent à celui de l'AM et l'AMC avec des coefficients de corrélation important et négatifsder= -0.331 et $r=-0.460$ respectivement.Ceci suppose que le gène de résistance au CTX est porté sur un génome différent à celle de l'AM et l'AMC ou ils sont situés sur un mêmegénome mais avec une grande distance génétique.

L'Analyse en Composantes Principales (Figure 35) a montré le même comportement spatiale pour CTX (Famille des β -lactamines), NA (Acide Nalidixique de la famille des Quinolones) et SXT (Cotrimoxazole de la famille des Sulfamides) avec des coefficients de corrélation positifs importants (NA et SXT : $r=0.839$; CTX et NA : $r=0.759$; CTX et SXT : $r=0.670$). Ce résultat est en agrément avec les données de la littérature qui ont montré que les gènes codants pour les BLSE sont généralement portés par des plasmides transférables de grande taille (85-275 Kb) sur lesquels ils sont souvent associés à des gènes codant pour la résistance aux Aminoglycosides, aux Sulfamides, aux Cyclines et aux Quinolones (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2010). Ainsi les plasmides *AmpC* (Céphalosporinases de classe C) peuvent transporter des déterminants supplémentaires de la résistance aux antibiotiques autres que les β -lactamines (Poole, 2004 ; Chelsie et al, 2012).

Le CS (Colestine) et AN (Amikacine de la famille des Aminoglycosides) ont montré des comportements spatiaux différents à ceux des autres antibiotiques, cela peut indiquer que les déterminants génétiques de la résistance à ces antibiotiques (CS, AN) sont différents ou très éloignés à ceux des autres antibiotiques étudiés (AM, AMC, SXT, CTX, NA).

Conclusion

L'émergence des souches de *Klebsiella spp.* résistantes aux différentes familles d'antibiotiques est désormais un fait établi à l'hôpital de Mila, ce phénomène est d'ailleurs remarqué partout dans le monde ce qui rend le traitement chimio thérapeutique inefficace. Durant la période d'étude de 2007 à 2013, 174 souches de *Klebsiella spp.* étaient isolées et testées pour la résistance aux antibiotiques. Une résistance très élevée de 95% pour l'Oxacilline a été observée. Le Céfotaxime enregistre le pourcentage le plus faible parmi les β -lactamines de l'ordre de 33,76%. Dans la famille des Macrolides, la résistance était totale pour le Lincomycine (100%) et de 44.44% pour le Colestine. Aussi, il a été remarqué que les Quinolones ont enregistré une résistance de 14.89% pour Ciprofloxacine et 40% pour Norfloxacine. Quant à la famille des Aminosides, *Klebsiella spp.* a montré des résistances faibles à Gentamicine de 15% et Amikacine de 24.28%.

L'ACP a permis d'étudier les relations qui pourraient exister dans la résistance de *Klebsiella spp.* aux différents antibiotiques. Les résultats ont été interprétés par rapport à la localisation et la mobilité génétique des gènes codants pour la résistance.

Les taux les plus élevés de la résistance de *Klebsiella spp.* à plusieurs familles des antibiotiques est due à la présence des déterminants naturels, l'acquisition de nouveaux déterminants de la résistance ainsi que des mutations génomiques.

Les résultats obtenus ont montré des variations des taux de résistance des souches de *Klebsiella spp.* isolées dans l'hôpital de Mila et ceux d'autres régions en Algérie et dans le monde, ceci est probablement dû aux conditions d'études géographiques et expérimentales différentes.

La résistance aux antibiotiques est une crise mondiale de la santé. Il existe au moins deux approches pour résoudre ce problème. Une façon est la désigne et l'utilisation de nouvelles classes thérapeutiques de médicaments pour traiter les infections causées par des pathogènes résistants. Une deuxième approche est le développement et la mise en œuvre de nouvelles techniques de surveillance dans laquelle non seulement d'identifier l'agent pathogène, mais les mécanismes de résistance employés par ces organismes.

Bibliographie

- Alireza Z., Rasoul Y. M., Amir M. E., Alikhani M. Y. (2013). Detection of *magA* Gene in *Klebsiella* spp. Isolated from Clinical Samples. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 16: 173-76.
- Arafa N. (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en sciences. Université Mentouri de Constantine: 187pp.
- Arafa N., Smati F., Scheftel J. M., Meunier O. (2009). Caractérisation phénotypique et génotypique de souche de *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* isolées à l'hôpital universitaire de Constantine, Algérie. Sciences et Technologie 30: 43-49.
- Avril J. L., Francois H. D. et Denis H. M., (1992). Bactériologie clinique. 2^{ème} édition, Ellipses: 511pp.
- Ben Haj K. et Khedher M. (2012). Epidémiologie des souches de *Klebsiella* spp. Uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, 2009. Pathologie Biologie 60: 1-5.
- Betsy T., Keogh J. (2002). Microbiology demystified teaching, Guide: 269pp.
- Björg C. H., Gunnar S. S., Arnfinn S. et Ørjan S. (2014) Norwegian Study Group on Aminoglycoside Resistance. Increased prevalence of aminoglycoside resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Norway is associated with the acquisition of AAC (3)-II and AAC (6')-Ib. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 78: 66–69.
- Cabral A. B., Melo R. A., Maciel M. A. V. et Lopes A. C. S. (2012). Multidrug resistance genes, including *bla_{KPC}* and *bla_{CTX-M-2}*, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 45: 572-578.
- Cavaret T., Briffaud M., *Klebsiella pneumoniae* en aviculture fréquence d'isolement, sensibilité aux antibiotiques, laboratoire resalab, challons, 2009.

- Chelsie N. G., Mark D. R., et Hanson N. D. (2012). Development of a TaqMan Multiplex PCR Assay for Detection of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase Genes. *Journal of Clinical Microbiology*: 3722–3725.
- Chowdhury P. R., Ingold A., Vanegas N., Martínez E., Merlino J., Podschun R. et Ullmann U. (1998). *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical microbiology reviews*: 589–603.
- David L. Paterson M. F., Wen-Chien K. M., Gottberg A. V., Mohapatra S., Casellas J. M., Goossens H., Mulazimoglu L., Trenholme G., Klugman K. P., Bonomo R.A., Rice L. B., Wagener M., McCormack J. G. et Victor L. Y. (2004). International Prospective Study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Extended-Spectrum β -Lactamase Production in Nosocomial Infections. *Ann Intern Med* 140: 26-32.
- Delarras, (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire, Pari, TEC et DOC: 452pp.
- Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale (techniques usuelles). Masson: 569 PP.
- Denis F., Martin C., Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale et infectieuse: 413pp.
- Diallo K.K. (2007). Fréquence d'isolement des *Klebsiella spp.* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel TOURE de 2002 à 2010. Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako: 96pp.
- Didier R. (1998). Dictionnaire de maladies infectieuses diagnostic épidémiologie repartition géographique, taxonomie symptomatologie. Elsevier, Paris: 1160 pp.
- Djelouat Salim. (2011), *Klebsiella, Enterobacter, Hafnia et Serratia*, Knol 81(500) 46 pp.
- El Fertas Aissani M., Messai Y., Alouache S. et Bakour R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumonia* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie* 61 (2013) 209–216.

- Fauchere J.L. et Avril J.L (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses: 237- 253pp.
- Fayaiz A., Baqir S. N., Shoaib M. H., Khurheed R. H., Dilnawaz S. et Khurram R. S. (2002). Macrolides resistance in Gram positive and negative clinical isolates in Karachi. Pakistan Journal of Pharmacology: 33-38pp.
- Gaëlle C., Thierry N., HaVy T., Villegas M. V., Karin T. W., Yehuda C., Gales A. C., Shiri N.V., John P. Q. et Patrice N. (2010). Worldwide Diversity of *Klebsiella pneumoniae* That Produces β -Lactamase bla_{KPC-2} Gene1. Emerging Infectious gastrointestinal colonization. BMC Microbiology 12: 201-209.
- Gioia S. B et David M. L. (2000). Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella spp.* collected from intensive care units in southern and Western Europe in 1997-1998. Journal of Antimicrobial chemotherapy 45: 183-189.
- Guillard T., Duval V., Moret H., Lucien B., Vernet-Garnier V. et Christophe C. (2010). Rapid Detection of *aac(6')-Ib-cr* Quinolone Resistance Gene by Pyrosequencing. Journal of Clinical microbiology, Jan. 2010: 286–289.
- Guiraud J. P. (2012). Microbiologie Alimentaire, Dunod, Paris: 651 pp.
- Helen M. H., Woodhouse R. E., Pope C. E. et Blackmore T. K. (2009). Prevalence and types of extended-spectrum β -lactamases among urinary *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* in New Zealand. International Journal of Antimicrobial Agents 34: 544–549.
- Hussein K., Raz-Pasteur A., Finkelstein R., Neuberger A., Shachor-Meyouhas Y., Oren I. et Kassis I. (2013). Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital-acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. Journal of Hospital Infection 83: 307-313.
- Ivanov D. V. et Egorov A. M. (2008). Spreading and Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Microorganisms, Producing Beta-Lactamases. Molecular Mechanisms of Resistance to Beta-Lactam Antibiotics of *Klebsiella spp.* Strains, Isolated in Cases of Nosocomial Infections. Biomedical Chemistry 03:311–317.

- Jaffar A., Al-Tawfi Q., Amalraj A. (2007). Antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* in a Saudi Arabian hospital, results of a 6-year surveillance study, 1998–2003. Japanese Society of Chemotherapy: 230–234.
- Jain A. et Mondal R. (2008). TEM & SHV genes in extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella* species & their antimicrobial resistance pattern. Indian J Med Res 128: 759-764.
- Jerom J, Perry J.T., Staly S. (2004). Microbiologie, Paris, Dunod: 891pp.
- Jina Lee, Chi Eun O., Choi Eun H., Jong Lee H. (2013). The impact of the increased use of piperacillin/tazobactam on the selection of antibiotic resistance among invasive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. International Journal of Infectious Diseases 17: 638–643.
- Joffin J. N., Leyral G., (2006). Microbiologie technique (dictionnaire des techniques). 4^{ème} édition tome 1. Espagne. CRDP Aquitaine: 363pp.
- Karah N., Poirel L., Bengtsson S., Sundqvist M., Kahlmeter G., Nordmann P., Sundsfjord A. et Samuelsen Ø. (2010). Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac (6')-Ib-cr in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* from Norway and Sweden. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 66: 425–431.
- Kenneth J.R. et George R.C. (2004). Sherris Medical Microbiology an introduction to infections Diseases. Medical Publishing Division Newyork, Chicago, Sanfrancisco, Libson, London, Madrid, Mexico, Milano: 997pp.
- Kenneth S. T., Christine C. S. et Moland E. S. (1999). Use of Microdilution Panels with and without β -Lactamase Inhibitors as a Phenotypic Test for β -Lactamase Production among *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens*. Antimicrobial agents and chemotherapy: 1393–1400.
- Linares L., Cervera C., Hoyo I., Sanclemente G., Marco F., Cofán F., Ricart M. J., Navasa M. et Moreno A. (2010). *Klebsiella pneumoniae* Infection in Solid Organ Transplant

Recipients: Epidemiology and Antibiotic Resistance. Transplantation Proceedings 42: 2941–2943.

-Ling Ma, Chi-Jan L., Jiun-Han C., Chang-Phone F., Feng-Yee C., Yiu-Kay L., Jung-Chung L. et Siu L. K. (2009). Widespread Dissemination of Aminoglycoside Resistance Genes *armA* and *rmtB* in *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Taiwan Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy: 104–111.

-Madigan M. et Martinko J. (2007), Biologie des micro-organismes, Pearson, France :1047pp.

-Maurice F. (2007). Plasticité structurale et émergence d'antibiorésistance à large spectre : étude d'un Aminoglycoside Acétyltransférase et recherche d'inhibiteurs. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie Paris: 179pp.

-Minor L., Veron M., Bactériologie Médicale 2^{ème} édition, Paris, 1989, 396- 795pp.

-Nawaz M., Khan S.A., Tran Q., Sung K., Khan A.A., Adamu I., Steele R.S. (2012). Isolation and characterization of multidrug-resistant *Klebsiella spp.* isolated from shrimp imported from Thailand. International Journal of Food Microbiology 155: 179-184.

-Oladipo A.O., Udoh S.J. (2013). Antibiotic susceptibility pattern of *Klebsiella pneumoniae* from clinical samples at a tertiary hospital in Ile-Ife, SouthWestern Nigeria. International Journal of Antimicrobial Agents 42: 41-159.

-Onishi M., Mizusawa M., Tsuchiya T., Kuroda T. et Ogawa W. (2014). Suppression of stop codon UGA in *acrB* can contribute to antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* ATCC10031. Gene 534: 313–319.

-Ortega M., Marco F., Soriano A., M. Almela, J. A. Martínez, López J., Pitart C. et Mensa J. (2011). Cefotaxime resistance and outcome of *Klebsiella spp.* bloodstream infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 30:1599–1605.

-Singleton P.(2005) , Bactériologie pour la médecine , la biologie et la biotechnologie ,Dunod : 542pp.

- Pérez-Moreno M. O., Centelles-Serrano M. J., Cortell-Ortolà M., Fort-Gallifa I., Joaquim R., Llovet-Lombarte M. I., Pico-Plana E. et Jardi-Baiges A. M. (2011). Molecular epidemiology and resistance mechanisms involved in reduced susceptibility to Amoxicillin/Clavulanic acid in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a chronic care centre. *International Journal of Antimicrobial Agents* 37: 462–466.
- Philip E. et Coudron.(2005). Inhibitor-Based Methods for Detection of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamases in *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*. *Journal of Clinical Microbiology*: 4163–4167.
- Pitout J. D. D., Ashfaq H., et Hanson N. D. (2004). Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M- β -Lactamases Produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* *Journal of clinical microbiology*: 5715–5721.
- Podschun R. et Ullmann U. (1998). *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology reviews*, 11(04): 589–603.
- Poole K. (2004). Resistance to β -lactam antibiotics. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences* 61: 2200–2223.
- Prescott,Harley, Klein.(2003), *Microbiologie de Boeck*, bruxlles, Masson: 1163pp.
- Raud P.(2003). Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) isolées au C.H.U de Nantes, de 1990 à 2001. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.
- Richard C. et Grimont F. (1992). *Bactériologie médicale*. Flammarion, Paris: 427-431pp.
- Ritchie D.J., Hopefl A.W., Milligan LW., Byrne J.E. et Maddux M.S. (1993). In vitro activity of Clarithromycin, Cefprozil, and other common oral antimicrobial agents against Gram positive and gram negative pathogens. *Clin Theor* 15(1): 107-113.
- Shahid M., Malik A., Akram M., Agrawal L.M., Khan A.U. et AgrawalM. (2008). Prevalent phenotypes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at an

Indian tertiary care hospital: plasmid-mediated cefoxitin resistance. *International Journal of Infectious Diseases* 12: 256-264.

-Shoma S., Kamruzzaman M., Andrew N. G., Jonathan R. I., Partridge S. R. (2014). Characterization of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* from Australia carrying bla_{NDM-1}. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 78: 93–97.

-Sylvain B., Francine G. et Grimont P. A. (2006). The Genus *Klebsiella*. *Prokaryotes* 6:159–196.

-Tlamçani Z., Ellaia K., Benomar A., Kabbaj H., Alaoui A.E. et Seffar M. (2009). La résistance aux fluoroquinolones chez des souches de *Klebsiella spp.* productrices de β -lactamase à spectre étendu isolées dans les urines. *Ann Biol Clin* 67: 553-556.

-Vatopoulos A. (2008). High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece-a review of the current evidence. *Euro surveillance* Vol. 13: Issues 1-3.

-Victor L. Y., Dennis S. H., Wen C. K., Sagnimeni A., Keith P. K., Gottberg A. V., Goossens H., Marilyn M. W. et Vicente J. B. (2007). Virulence Characteristics of *Klebsiella* and Clinical Manifestations of *K. pneumoniae* Bloodstream Infections. *Emerging Infectious Diseases* 7: 986-993.

-Villegas M. V., Lolans K, Correa A., Suarez C. J., Lopez J.A., Vallejo M. et Quinn J.P. (2006). First Detection of the Plasmid-Mediated Class A Carbapenemase KPC-2 in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrobial agents and chemotherapy*:2880–2882.

-Vinod K., Peng S., Jessica V., Yong L., Karen I., Leslie P., Jianzhong H. et James R. B. (2011). Comparative Genomics of *Klebsiella pneumoniae* Strains with Different Antibiotic Resistance Profiles. *Antimicrobial agents and chemotherapy*: 4267–4276.

-Yang L., Xiang-Yang L., La-Gen W., Wei-Yan J., Jing-Hong Y., Fang-Qu L. (2013). Acquisition of carbapenem resistance in multiresistant *Klebsiella pneumoniae* isolates of sequence type 11 at a university hospital in China. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 76: 241–243.

-Ying-Tsong C., Hung-Yu S., Ling-Hui L., Tsai-Lien L., Keh-Ming W., Yih-Ru S., Jing-Jou Y., Ih-Jen S., Shih-Feng T. et Tsai-Ling L.(2006). Complete Nucleotide Sequence of pK245, a 98-Kilobase Plasmid Conferring Quinolone Resistance and Extended-Spectrum- β -Lactamase Activity in Clinical *Klebsiella pneumonia*. Antimicrobial agents and chemotherapy: 3861–3866.

Annexe A : Antibiorésistance de *Klebsiella* spp. en 2007

Dates	Sexe	Age	PV	AMP	AMC	AN	AMX	CXX	CXT	CS	FOS	FA	GN	IPM	NK	NAL	SXT	P	GM	CTX	SP
24/02/07	H	28 A	HM	R	R	S			R	R							R				
10/03/07	F	/	P.V	R		S							S				R			S	
10/03/07	F	/	P.V	S	S	S							S				S			S	
18/03/07	H	45 A	/	R	S	S			S				S				S				
18/03/07	H	3 M	/	R	R	S		R					S				S				
18/03/07	H	54 A	/	R	R	S			S				S				R				
26/03/07	F	25 A	/	R	R				R				R				S				
26/03/07	F	30 A	/	R	R	S			S				S				S				
24/04/07	F	18 A	TA	R	R	S			S	S			S	R			S				
28/04/07	F	48 A	TA	R	R	S			S	S			S				S				
28/04/07	F	50 A	/	R	R	S			S	R			S	R							
03/05/07	F	31 A	TA	R	R	S			S	R			S								
08/05/07	F	54 A	/		R	R			S	R			S				R				
12/05/07	F	47 A	/	R		S			S	R			S	R							
12/05/07	H	/	TA	R	R	S			S	R			S	R			R				
26/05/07	F	/	PP	R	R														R		
26/05/07	F	/	TA	R	R	S			S	R			S	R			R				
04/06/07	H	2 M	/	R		R				S			R	R			R				
09/06/07	H	/	/	R	R	S				S			S	R			R				
09/06/07	F	36 A	P.V	R	R								S				R				
18/06/07	F	/	TA	R	S								S	R		R	R				
18/06/07	F	26 A	P.V		R					R			S	R		R	R				R
24/06/07	F	27 A	TA		R	R				S			S	R							
07/07/07	H	/	TA		R	S				S			S			S					

Dates	Sexe	Age	PV	AMP	AMC	AN	AMX	CXT	CS	FOS	FA	GN	IPM	NK	NAL	SXT	P	GM	CTX	SP
16/07/07	H	50 A	TA		R	S			R			S			R		R			
21/07/07	F	36 A	TA			S		S				S								
22/07/07	F	/	P.V	R	R				R			S	R			R				
24/07/07	H	3 A	/		R	S			S			S	R		S	R				
24/07/07	F	29 A	TA			S			S			S	R		S	R				
30/07/07	F	/		R					R				R	R		R	R			
04/08/07	F	6 A	PP		R				S		R		R		S	S				R
13/08/07	F	24 A	/					S				S	R							
18/08/07	F	16 A	/		S				S			S	R		S	S				
20/08/07	F	27 A	/		R				S			S	R			R				
25/08/07	F	79 A	/		R				S			R	R		R	S				
01/09/07	H	5 M	/						S				R	S						
08/09/07	H	24 A	/		S				S	R		S			S	S				
08/09/07	H	/	/		R				S						R	R				
08/09/07	F	/	P.V				R					S				R				
11/09/07	F	/	P.P		R		R			R						R				
17/09/07	F	28 A	/		R		R		S			S			S	S				
17/09/07	F	29 A	/		R		R		S			S			R	R				
24/09/07	F	/	P.V		R		R		S			S				R				
23/10/07	H	17 M	/		R		R		S			S								
27/10/07	F	60 A	/		R		R					S			R	R				
31/10/07	F	/	P.U																	
26/11/07	F	39 A	TA					S		S										
26/12/07	F	/	/														S	S		

F: Femmes, **H:** Hommes, **A:** année, **M:** mois, **PV:** prélèvement, **P.U:** prélèvement urinaire, **P.P:** prélèvement pus, **TA:** externe, **CH:** chirurgie, **HM:** hémoculture, **P.V:** prélèvement vaginale.

Annexe B : Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* en 2008

Date	Sexe	Age	PV	AMC	CTX	FOS	OX	P	AMP	GN	CZ	GM	AM X	PIP	NA	TE	CS	K	CFP	SX	DOX	IPM	AN	PRI	NOR	AC	F	CLI	SP	COL	GN
28/01/08	F	30 A	HM		S				S			S	S	S																	
28/01/08	F	28 A	P.V						R			S	R	R	R	R															
02/02/08	F	39 A					R		R			S	R		S	R	S														
02/02/08	H	55 A	P.P	R	R		R		R		R			R		S												S		S	R
17/02/08	F	24 A	P.V				R	R	R						S			S						S							
22/03/08	H	57 A	P.P	R	S	R					R																	R			
22/03/08	F	/	P.P	R	S			R			R		R						S												
24/03/08	F	33 A	P.V		S				R				R													R					
24/03/08	F	12 M	HM	S			R	S	R				R						S												
08/04/08	H	MH	P.P	R			R					S		S			R			S											
26/04/08	F	/	P.V	R	S				R			S					R		S												
26/04/08	F	50 A	P.V	R	S				R			R					S		S												
08/04/08	F	45 A	P.V	R					R			S			R		R	R													
09/06/08	F	40 A	P.V				R	R					R								S	R		S							
08/08/08	F	27 A	P.V													R					R		S		R				R		S
10/08/08	F	/	P.V				R					S										R		R	S						
12/08/08	F	/	P.P	R	R		R													R						R	R		R		
12/08/08	F	MH	P.P				R											R								R	R				
14/09/08	F	/	P.V		S		R															R		S							
27/09/08	F	18 A	TA		S							S									R	R			S		R				
18/10/08	F	26 A	P.V		S						S									S			R		S						
30/10/08	F	/	P.V	R		R				R	R			S																	
30/10/08	F	26 A	/	R	R	R			R		R		S																S		
19/11/08	F	/	P.V		S				S		S				S											S			S		
24/03/08	F	36A	P.V	S				R			S	S				S			S												

F: Femmes, **H:** Hommes, **A:** année, **M:** mois, **PV:** prélèvement, **P.U:** prélèvement urinaire, **P.P:** prélèvement pus, **TA:** externe.

Annexe C : Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* en 2009

Date	Age	Sexe	PV	A	AC	AM	AR	AK	AMX	AN	CZ	CTX	CO	CE	CL	CN	CTX	ERY	EOS	F	GM	LN	NO	NA	OX	P	PRI	PIP	SXT	SP	STP
20/02/09	3 A	H	HM		S						S				s										S						S
22/02/09	/	H	P.P	R	S						S				S										R						
08/03/09	50A	H	MH	R	R								R		S						S		R								
08/03/09	/	/	/		R	R									S								S		R	R					
08/03/09	72A	H	/	R	S	S					S				R										R						S
16/05/09	39A	H	/	R									S	S	S									S	R						
24/05/09	30A	/	/	R		R					R			S	R									R							
30/05/09	/	F	/	R	R	R								S								R	S	R							
14/06/09	/	F	TA		R		S							S	R						S			S							
26/06/09	31	F	/		R						R		R	S							S			R							
04/07/09	/	F	P.P		S						S			S							S			R		S					
04/07/09	23A	H	P.P		R		R				R			R							S			S	R						
19/07/09	75A	F	P.P		R	S		S						S							S						S				
03/08/09	/	F	P.V		R									S	S						S		R								
01/09/09	74A	F	P.P					S			R			S							S				R			R			
29/09/09	/	H	P.P									R																			
12/10/09	/	F	P.P						S		S					R		R										S	R	S	
12/10/09	79A	H	CH			R			R		R	R				R		R			R	R			R			R	R	R	
13/10/09	/	F	P.V TA						S		R										S				R			R	R		
13/10/09	/	F	P.V TA							R	R										R		R			R			R		
13/10/09	53A	H	P.P TA			R			R	S	S	S						S			S				R	R		R	S	R	
14/10/09	24M	F	P.V			S						R	R	S				S				R									
27/10/09	30A	/	TA									S		S												S					
5/11/09	19A	H	P.P TA			R		R			R	S			S			R				R				R		R	R	R	

F: Femmes, **H:** Hommes, **A:** année, **M:** mois, **PV:** prélèvement, **P.U:** prélèvement urinaire, **P.P:** prélèvement pus, **TA:** externe. **HM :** hémoculture. **CH :** chirurgie, **P.V:** prélèvement vaginale.

Annexe D:Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* en 2012

Date	Sexe	Age	SV	PV	AK	AN	AM	AMC	AMX	CIP	CN	CT	CTX	CZ	CS	CM	GM	IPM	NI	NA	PIP	SXT	NTX
13/02/12	F	70 A	/	P.U			R	R					R	R						R			
19/02/12	F	60 A	/	P.U			R			S		S							S				
28/02/12	F	22 A	TA	P.U			R	R			S							S		S			
4/03/12	F	52 A	TA	P.U	S		R	R		S		S	S	S				S		S		S	
08/04/12	H	87 A	CH	P.U		S	R	R					S	R	S		S	S		R		R	
09/04/12	F	7 M	PD	PU		R	R	R					R	R	S		R	S		S		R	
10/04/12	F	4A	TA	P.U	S			R		S	R	S	R	R				S		R		R	
10/04/12	F	25 A	TA	P.U	S		R	R		S		R	S	R				S		S		S	
11/04/12	F	45 A	/	P.U	R		R	R		R		R	R	R				R		R		R	
11/04/12	H	6 A	TA	P.U	R		R	R				R		R				R		R		R	
16/04/12	F	53 A	/	P.U						R	S		S							R		S	
16/04/12	F	31 A	/	P.U			R	R		S			S	S				S					
24/04/12	F	72 A	/	P.U	S		R	R		S	S	S	S	S				S					
29/04/12	F	64 A	CH	P.U	S		R	R		S	S	S	S					S		S			
30/04/12	H	50 A	/	P.U			R	R		R				R	S			S	R			R	
13/05/12	F	27 A	TA	P.U									S	S				S		S		S	
22/05/12	F	42 A	TA	P.U	S		R	R		S		S	S					S		S		S	S
27/05/12	F	50 A	TA	P.U		S	R	R					S		S			S		S		S	
27/05/12	F	4 A	/	P.U	S		R	R							R			S		R		R	
05/06/12	F	53 A	EXT	P.U	S		R	R		S	S		S					S		S		S	
12/06/12	F	34 A	/	P.U	S					S			S					S					
19/06/12	F	31 A	EXT	P.U			R	R			S	R		R				S		R		R	R
20/06/12	H	2 M	PD	P.U		R		R			R	S	R	R				S				R	
03/07/12	F	55 A	EXT	P.U			R	R			S	S	S						S			R	R
03/07/12	F	3 M	PD	P.U			R	R			R	S	R	R						S		R	S
15/07/12	F	28 A	/	P.U	S			S					S	S			S	S					
17/07/12	H	6 M	/	P.U				R			S	S	S	R				S		R		R	
22/07/12	/	22 A	/	P.U	S		R			S		S	S	S		S		S				S	
22/07/12	H	2 M	PD	P.U			R	R		S	R	S	R	R				S				S	R
24/07/12	F	17 A	/	P.U	S		R	R		S	R	S	R	R				S				S	
30/07/12	F	3 A	PD	P.U	S		R	R		S	R	S	R	R				S				R	
30/07/12	F	8 M	PD	P.U	S		R	R		R	R	S	R	R				S				R	
30/07/12	H	49 A	EXT	P.U	S		R	R		S		S	S					S		S		S	
06/08/12	F	9 M	PD	P.U			R	R		S		S	S	R		S				S		S	S
22/08/12	F	/	EXT	P.U	S			R		S	S		S	R						S		S	S
27/08/12	F	33 A	/	P.U	S		R	R		S	S	R								S		R	S
27/08/12	F	55 A	/	P.U	S		R			S	S			R						R			S
27/08/12	F	52 A	EXT	P.U	S		R	R		R	S		R							R			S

27/08/12	F	8 A	EXT	P.U	S		R	R		S	S		S						S			S
04/09/12	H	/	/	P.U			R	R					S	R				S		S		S
10/09/12	F	55 A	/	P.U				R		S		R	S						S		S	S
10/09/12	F	/	/	P.U				S		S	S	R	S						S		S	S
17/09/12 ²	H	5 M	/	P.U						S	S	S	R	R					R		R	S
07/10/12	H	58 A	/	P.V	S			R		S	S	R	R	R							R	
07/10/12	F	17 A	/	P.U	S					S	S						S		S		S	
08/10/12	F	/	/	P.U		S	R			S			S	R	R		R	S		R	R	R
09/10/12	F	/	/	P.U			R	R		S			R		R		S			R	R	R
09/10/12	F	/	/	P.U			R	R		S				R	R		S			R	R	R
10/10/12	F	10 J	/	P.U		R	R	R	R	R			R	R				S		R	R	
14/10/12	H	2 M	/	P.U				R		S			R	R		R		S	S	R	R	R
16/10/12	F	13 M	/	P.U			R			S			R	R			S		S	R	R	R
21/10/12	H	35 A	/	P.P	S			R		S			S	R			S			R	S	
11/11/12	H	/	/	P.U				R	R	S		S	S	R			S	S		R		S
11/11/12	F	23 A	/	P.U	S			R	R	S	R	R	S	R				S		S	R	
25/11/12	H	/	/	P.U			R	R		S		R	S	R			S	S		S	R	
26/11/12	F	/	/	P.U	S	S	S	R		S	S	S	S	S				S		S	S	S
26/11/12	H	14 A	/	P.U			R	R		S		S		R					R			R
02/12/12	F	2 A	/	P.U	R	R	R	R		R		R	R	R				S				
03/12/12	H	8 A	/	P.U	S		R	R		S	R	S	R					S		R	R	S
04/12/12	F	/	/	P.U			R	R		S	S	S	S					S		R	R	S
13/12/12	F	6 A	/	P.P						S	R		R							R		
18/12/12	H	76 A	/	P.P	R				R				R	R				S		S		
18/12/12	F	2 A	/	P.U	S		R	R		S	R	R	S	R				S		S		
30/12/12	F	26 A	/	P.U			R	R		S	S	R	S	R				R		R		
30/12/12	F	/	/	P.V					R	S		R										

F: Femmes, **H:** Hommes, **A:** année, **M:** mois, **SV:** service, **PV:** prélèvement, **P.U:** prélèvement urinaire, **P.P:** prélèvement pus, **TA:** externe, **CH:** chirurgie, **PD:** pédiatrie, **EXT:** externe, **HM:** hémoculture, **P.v:** prélèvement vaginale

Annexe E:Antibiorésistance de *Klebsiella spp.* en 2013

Date	sexe	Age	PV	CT	IPM	CIP	GN	CN	CT X	NTX	AK	CO	NA	AMC	CZ	AM	CM	SXT
06/01/13	F	/	TA	S	S	S	/	S	S	/	R	R	R	R	R	/	/	/
07/01/13	F	/	TA	S	S	S	/						S	R	R	R	S	S
08/01/13	F	/	M	R	S	S	S	/	S	S	S	S	S	R	R	R	/	/
08/01/13	F			R	S	/	/	S	S	S	/	S	S	R	R	R	/	/
29/01/13	F	32 A	TA	R	/	S	/	S	S	S	S	R	S	R		R		
05/02/13	H	/	P.P	R		S			R		R			R	R			R
06/03/13	F	31 A	TA	S		S			S					R	R			R
13/03/13	H	2 A	P.P	S			S		S		S				R			R
03/06/13	/	/	TA	S			S						S		S			R
18/06/13	F	37 A	/	S	S									R	R			S

F: Femmes, **H:** Hommes, **A:** année, **PV:** prélèvement, **P.P:** prélèvement pus, **TA:** externe.

Résumé

Dans la présente étude réalisée à l'hôpital de Mila, 174 souches de *Klebsiella spp.* ont été isolées de 2007 à 2013 et testées vis-à-vis de la résistance aux antibiotiques. Les résultats ont montré que *Klebsiella spp.* était résistante à des taux élevés aux β -lactamines excepté pour Céfotaxime (33.76%). Aussi, elle a montré une résistance importante aux Macrolides (Lincomycine 100% et Erytromycine 87.50%). Par contre, les Aminoglycosides et les Quinolones, particulièrement la Gentamycine et Ciprofloxacine étaient efficaces contre *Klebsiella spp.* avec des taux de résistance 15% et 14.89% respectivement.

Mot clés : *Klebsiella spp.*, identification, Antibiorésistance, Mila, ACP

Abstract

In the present study realized in Mila hospital, 174 strains of *Klebsiella spp.* were isolated from 2007 to 2013 and tested for antibiotic resistance. The results showed that *Klebsiella spp.* was resistant to high levels to β -lactam antibiotics except for Cefotaxim (33.76%). Also, it was resistant to Macrolides (Lincomycin 100% and Erytromycin 87.50%). However, the Aminoglycosides and Quinolones, particularly Gentamicin and ciprofloxacin were effective against *Klebsiella spp.* with resistance rates 15% and 14.89% respectively.

Keywords: *Klebsiella spp.*, identification, Antibiorésistance, Mila, ACP.

المخلص

في هذه الدراسة التي أجريت في مستشفى ميلة 174 *Klebsiella spp.* ما بين 2007 و 2013
مقاومتها للمضادات الحيوية. أظهرت النتائج أن نسبة عالية من العزلات كانت
lactamines (33.76% Céfotaxime) ، كما أنها أظهرت مقاومة لعائلة Macrolides
Erytromycine (%87.50 Lincomycine) 100% Aminoglycosides Quinolones
Gentamycine Ciprofloxacin 14.89% 15% *Klebsiella spp.*

الكلمات المفتاحية: *Klebsiella spp.* التحديد البكتيري مقاومة المضادات الحيوية ميلة ACP.