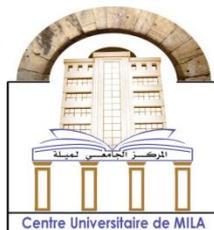


N° Réf :.....



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF 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**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Option : Biochimie et Microbiologie Appliquées

Thème :

Profils de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj

Présentée par : ZEMMIT YACINE

Devant le jury composé de :

Présidente

M^{elle} BOUCHEKRIT Moufida

MAA

Examineur

Mr BOUSBIAA Sabri

MCB

Promoteur

Mr BOUBENDIR Abdelhafid

MCB

Année Universitaire: 2015/2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية 32

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ

Remerciements

Avant tous je tiens à remercier le Dieu Le tout puissant qui m'a doté de volonté et de patience pour réaliser ce travail

Je tiens tout d'abord à exprimer mes chaleureux remerciements a mon encadreur monsieur BOUBENDIR Abdelhafid Maitre de conférence B dans le centre universitaire de MILA, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ces précieux conseils, son aide, ses suggestions durant la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il m'a confié tout au long de cette étude.

Je tiens aussi à remercier

M^{lle} BOUCHEKRIT Moufida Maitre assistant A dans le centre universitaire de Mila, d'avoir accepté de présider le jury.

Mr BOUSBLAA Sabri Maitre assistant A dans le centre universitaire de Mila, pour avoir accepté à examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier M^{lle} HadeF Sawsen et M^{lle} Rabhi Nour El-Houda pour ces conseils durant ce travail.

A tous le techniciens de laboratoire de microbiologie de centre universitaire de MILA, veuillez accepter mes remerciement pour votre aide et patience.

Enfin je remercier tous ce qui ont contribué a la réalisation de ce travail modeste de pré ou de loin.

MERCI

Dedicaces

Je dédie ce pudique travail a

*Papa, Mama à vous deux, Les personnes les plus chers à mes yeux,
Que Dieu vous garde tout près de nous et merci d'avoir fait de moi le
prince de votre royaume.*

*A ma mère la perle la plus chère, La source de tous mes espoirs, Je
te dis quel plaisir de rentrer chez soi chaque soir.*

*A mon père, La base de toute ma carrière, Je te remercie à ma
manière, Car tu es le plus cher qui existe sur terre.*

*A mes chères sœurs « Fouzia, Samia, Warda, Lila, Nadjia, Naima,
Ibtissem » merci d'être toujours là pour me donner le soutien et le
courage.*

*A mon frère AYMEN Allah yarahmou en important Dieu tout
puissant de l'accueillir en son vaste paradis.*

*A mes chères amis « Fawzi, Amine, Zahro, Akram, Mehdi,
Abdelmoumen, Seifeddine, Abdou, Kamel, Moudjib, Nouar, Ayoub,
Fatah, Redhouane, Mouloud, Khaled, Mouadh, Noureddine,
Merouan, Mohammed, Abdeldjebbar, Hakim, Abdelhafidh, Ahmed ».
Merci d'être a mes cotés dans les plus dures moments.*

*A mes petites sœurs « Rahma, Radhia, Hasna, Imane, Amel,
Houda, hayet, fatima, Nadhira, chahra, housna, sana, Meriem ».
Merci d'être des lanternes dans les moments de noirceur.*

Je remercier aussi toute la famille Boukhelif Yahia

*Je tien a remercier aussi tout l'équipe de pharmacie Saïfi,
laboratoire MIMOUNI, laboratoire SEBTI, laboratoire IBN-NAFIS.*

*A toute personne que je n'ai pas citée et qui m'a aidé de près ou de
loin, je vous remercie.*

Que Dieu vous protège tous «Yacine ».

Liste des abréviations

A.C : Acide Clavulanique

ADH : Arginine déshydrogénase

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFC : Analyse Factorielle des Correspondances

AK : Amikacine

AMC: Amoxicilline/Acide Clavulanique

AMO : Ampicilline

AMX : Amoxicilline

AN : Amikacine

ARN : Adénosine Ribonucléotidique

AZM : Azithromycine

AZT : Aztréonam

BBA : Bordj Bou Arreridj

BGP : Pourpre de bromocrésol

BLSE : Bêtalactamases à spectre élargi

C : Chloramphénicol

C1G : Céphalosporines de première génération

C3G : Céphalosporines de deuxième génération

C4G : Céphalosporines de troisième génération

CARD : Cardiologie

CAZ : Ceftazidime

CEF : Cefalotine

CFM : Céfépime

CFO : Cefoxitin

CHU : Centre hospitalier universitaire

CIP : Ciprofloxacine

CITR : Citrate de Simmons

Citr : *Citrobacter*

CLI : Clindamycine

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COT : Cotrimoxazole

CpKP : *Klebsiella pneumoniae* productrice des carbapénémases

CPM : Céfépime

CRO : Ceftriaxone
CS : Colistine
CTX : Céfotaxime
CTX-M : Céfotaximase classe M
CZ : Céfazoline
CZO : Céfazoline
D.O. : Densité Optique
DNase : Désoxyribonucléase
DOX : Doxycycline
E : Erythromycine
EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance
ECBU : Etude cytobactériologique des urines
ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA : acide éthylène-diamine-Tétraacétique
EMB : Éosine bleu de méthylène
Ent : *Enterobacter*
EPSP : Etablissement Public de Santé de Proximité
Esch : *Escherichia*
ETP : Ertapénème
FA : acide fusidique
FOS Fosfomycine
FQ : fluoroquinolones
GEN : Gentamycine
GLUC : Glucose
GM : Gentamycine
H₂S : Sulfure d'hydrogène
Hémo : Hémoculture
I : Intermédiaire
IMP : Imipenème
Inc : Incompatibilité
IU : Infections Urinaires
KAN : Kanamycine
KCN : Potassium Cyanide
KPC : Carbapenemase

KPC-A : Carbapénemases classe A
LACT : Lactose
LDC : Lysine-Décarboxylase
LPS : Lipopolysaccharides
MOB : Mobilité
MPM : Méropénème
NA : Acide Nalidixique
NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards
NDM : New Delhi métallobêta-lactamase
NET : Nétilmycine
NIT : Nitrofurane
O.R.L : Oto-rhino-laryngologie
ODC : Ornithine-décarboxylase
OFX : Ofloxacine
ONPG : Orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside
ORFs : Open Reading Frames
Ori : Origine de Transfert
OX : Oxacilline
P : Pénicilline
Pb : Paire de base
PCR : Polymérase Chain Réaction
PDA : Phénylalanine désaminase
PIP : Piperacycline
PLP : phosphate de pyridoxal
PRI : Pristinamycine
Prot : *Proteus*
Prov : *Providencia*
PTI : Pseudotumeurs Inflammatoires
Qnr : gene de resistance aux quinolones
Sacch : Saccharose
Salm : *Salmonella*
Serr : *Serratia*
Shig : *Shigella*
Spp : Espèce

Subsp : Sous- espèce

SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

TAZ : Tazobactam

TEC : Téricoplanine

TET : Tétracycline

TIC : Ticarcilline

TOB : Tobramycine

UDP-N : Uridine diphospho-N-acétylglucosamine

UMC : Urgences médico-chirurgicale

USI : Unités De soins Intensifs

VAN : Vancomycine

VP : Vogues-Proskauer

Yers : *Yersinia*

Liste des Figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Arbre phylogénétique présentant la position de <i>Klebsiella</i> parmi les espèces des Entérobactéries	4
Figure 2	Aspect des colonies de <i>Klebsiella</i> sur gélose MacConkey	5
Figure 3	Répartition des causes de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans dans le monde	9
Figure 4	Cibles des principales familles des antibiotiques	14
Figure 5	Développement de la résistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella pneumoniae</i> depuis l'année 2005	20
Figure 6	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	21
Figure 7	Prévalence de <i>K. pneumoniae</i> productrice de (BLSE) par pays	24
Figure 8	Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux différents antibiotiques testés	28
Figure 9	Pourcentage d'isolats de <i>K. pneumoniae</i> avec résistance combinée aux céphalosporines de troisième génération, les fluoroquinolones et les aminosides en 2011 et 2014	34
Figure 10	Pourcentage d'isolats de <i>K. pneumoniae</i> avec résistance combinée aux carbapénèmes en 2011 et 2014	34
Figure 11	Carte circulaire du plasmide pKF3-94 isolé d'une souche hospitalière de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	44
Figure 12	Carte circulaire du plasmide pRYC11 et leur comparaison par BLAST avec les plasmides pKDO1, pKpQIL, et pKPN3	45
Figure 13	Carte circulaire des plasmides p628-KPC (A) et p628-CTXM (B) coexistés chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>	47
Figure 14	Structure d'un intégron de classe 1 et représentation du mécanisme de capture et d'expression d'une cassette de gène	49
Figure 15	Carte génétique du plasmide multiresistant pKP048 isolé d'une <i>Klebsiella pneumoniae</i> hospitalière	50
Figure 16	Repiquage et ensemencement des souches	57
Figure 17	Milieu Muller-Hinton en boîtes pétri	59
Figure 18	Préparation de l'inoculum	60

Figure 19	Ensemencement par la méthode d'inondation	61
Figure 20	Dépôt des disques d'antibiotiques	61
Figure 21	Incubation des boîtes d'antibiogramme dans l'étuve a 37°C	62
Figure 22	Conservation des souches dans le bouillon nutritif glycérolé	63
Figure 23	Aspect macroscopique des colonies de <i>K. pneumoniae</i> sur gélose Hecktoen	64
Figure 24	Incidence des souches de <i>Klebsiella</i> spp. selon leurs origines hospitalières ou communautaires dans les hôpitaux de BBA (2015-2016)	70
Figure 25	Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon le sexe	72
Figure 26	Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon la nature de prélèvement	74
Figure 27	Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de 106 souches de <i>Klebsiella</i> spp. isolées des hôpitaux de BBA en Algérie de janvier 2015 à février 2016	75
Figure 28	Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) des phénotypes de résistance aux antibiotiques de 106 souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées dans les hôpitaux de BBA	84

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Caractères biochimiques d'identification des espèces de <i>Klebsiella</i> spp. et des subsp. <i>K. pneumoniae</i>	5
Tableau 2	Principaux caractères des genres des entérobactéries	6
Tableau 3	Les principales familles des antibiotiques utilisées pour le traitement des infections bactériennes de l'homme	14
Tableau 4	Classification des céphalosporines en générations	17
Tableau 5	Les principales familles des antibiotiques utilisées en Algérie	18
Tableau 6	Classification et propriétés des bêtalactamases	22
Tableau 7	Principaux mécanismes de résistance chez les entérobactéries	23
Tableau 8	Concentrations minimales inhibitrices des β -lactamines testés sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
Tableau 9	La fréquence de la résistance aux autres antibiotiques des souches de <i>Klebsiella</i> productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu	27
Tableau 10	Caractéristiques des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées des septicémies néonatales	29
Tableau 11	Pourcentages de susceptibilité des antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées des urines et pus	29
Tableau 12	Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> des isolats externes (1998-2003)	30
Tableau 13	Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> des isolats nosocomiaux (1998-2003)	31
Tableau 14	Comparaison entre les taux de résistances entre les isolats externes et nosocomiaux	31
Tableau 15	Profils de susceptibilité aux antimicrobiens de <i>Klebsiella pneumoniae</i> déterminés par E-test	32
Tableau 16	Profils de susceptibilité aux antimicrobiens de <i>Klebsiella pneumoniae</i> déterminés par diffusion sur gélose	32

Tableau 17	Susceptibilité aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de bêtalactamases (CTX-M) à New York de 2005 à 2012	35
Tableau 18	Origine et profils de résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	36
Tableau 19	Profils de résistance aux antibiotiques de 07 isolats de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	38
Tableau 20	Profils de résistance aux antibiotiques de 24 isolats de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	38
Tableau 21	Profils de résistance de 54 isolats de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	39
Tableau 22	Caractéristiques et structure de base des éléments transposables impliquées dans la résistance aux antibiotiques	48
Tableau 23	Résumé des genes de résistances aux antibiotiques, leurs fonctions, localisation et le phénotype de résistance	51
Tableau 24	Matériel et produits	55
Tableau 25	Fréquence d'isolement de 106 souches de <i>Klebsiella</i> spp. dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj (2015/2016)	56
Tableau 26	Résultats d'identification biochimique de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	64
Tableau 27	Résultats de l'antibiogramme de <i>K. pneumoniae</i> (K 38)	65
Tableau 28	Profile de résistance aux antibiotiques de 106 souches de <i>Klebsiella</i> spp. isolées des hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de janvier 2015 à février 2016. Selon le sexe, l'âge, la nature du prélèvement et le service d'hospitalisation	66
Tableau 29	Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon l'origine hospitalière ou communautaire	70
Tableau 30	Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon le sexe	71

Tableau 31	Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon la nature du prélèvement	73
Tableau 32	Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de 106 souches de <i>Klebsiella</i> spp. isolées des hôpitaux de BBA en Algérie de janvier 2015 à février 2016	74
Tableau 33	Antibiorésistance totale de 106 souches de <i>Klebsiella</i> spp. isolées des hôpitaux de la wilaya de BBA de 2014 à février 2016, selon la nature du prélèvement	82
Tableau 34	Résistance pour 16 antibiotiques de <i>Klebsiella</i> spp. isolée des hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj de 2015 à février 2016, selon la nature du prélèvement (tableau pour AFC)	83

Sommaire

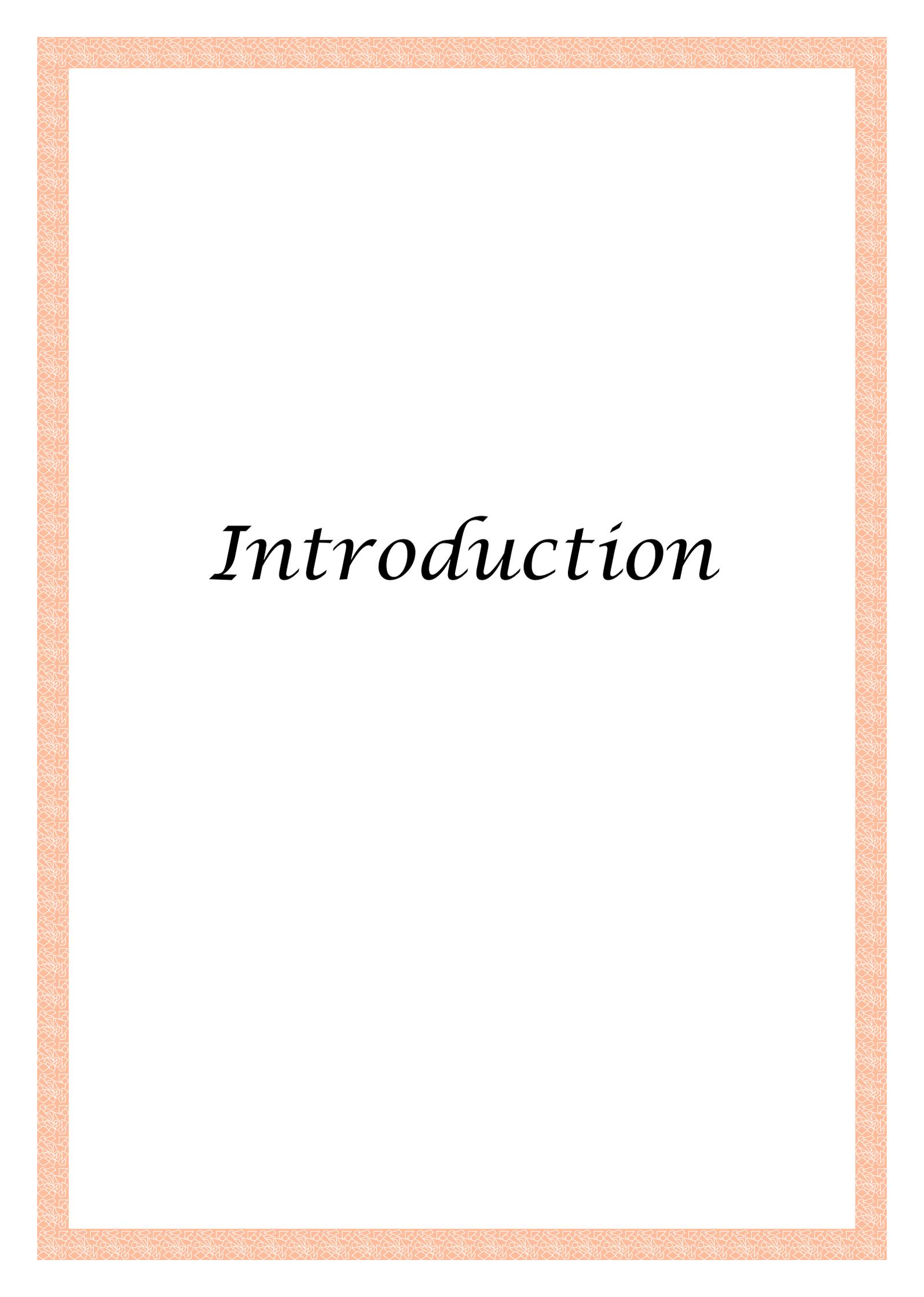
Liste des Abréviations.....	I
Liste des Figures.....	V
Liste des Tableaux.....	VII
Introduction.....	1
Partie I : Recherche Bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le genre <i>Klebsiella</i> spp.....	3
1. Présentation du genre	3
2. Classification.....	3
3. Bactériologie de l'espèce.....	4
3.1. Caractères généraux	4
3.1.1. Caractères morphologiques.....	4
3.1.2. Caractères cultureux.....	4
3.2. Caractères biochimiques.....	5
3.3. Structure antigénique.....	6
4. Habitat et écologie.....	7
5. Epidémiologie.....	7
6. Prévention de la résistance aux antibiotiques.....	11
Chapitre 2 : Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>.....	13
1. Les principales familles des antibiotiques.....	13
2. Développement de la résistance chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
3. Types de résistance.....	20
3.1. Résistance naturelle de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
3.2. Résistance acquise de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
4. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	21
5. Résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella</i> dans le monde.....	24
5.1. En Afrique.....	25
5.1.1. Algérie.....	25
5.1.2. Tunisie.....	26
5.1.3. Maroc	27
5.2. En Asie	28

5.2.1. Chine.....	28
5.2.2. Inde.....	29
5.2.3. Arabie saoudite.....	30
5.2.4 Liban.....	32
5.3. En Europe.....	33
5.4. En Amérique du Nord et Amérique de Sud.....	35
5.4.1. Etats Unis d'Amérique.....	35
5.4.2. Brésil.....	35
Chapitre 3 : Les profils de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> à différentes familles des antibiotiques.....	37
1. Exemples d'études des profils de resistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
1.1. Espagne.....	37
1.2. Brésil.....	38
1.3. Algérie.....	39
Chapitre 4 : Bases génétiques de la résistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>.....	41
1. Origine des gènes de résistance aux antibiotiques.....	41
2. Mécanismes génétiques de resistance aux antibiotiques chez <i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
2.1. Résistance chromosomique.....	42
2.2. Résistance extrachromosomique.....	42
3. Cartographie des gènes de résistance aux antibiotiques.	49
4. Diffusion de la résistance aux antibiotiques.	52

Partie II : Recherche Expérimentale

1. Matériel et Méthodes.....	53
1.1. Matériel et produits	55
1.1.1. Les isolats bactériens.....	55
1.2. Méthodologie.....	56
1.2.1. Repiquage et ensemencement des souches.....	56

1.2.2. Réalisation de l'antibiogramme.....	57
1.2.3. Conservation des souches.....	62
1.2.4. Etude statistique.....	63
2. Résultats et Discussion	64
2.1.Aspect macroscopique de <i>Klebsiella</i> spp.....	64
2.2.Galerie biochimique de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	64
2.3.Résultat de l'antibiogramme.....	65
2.4.Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolée dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016.....	69
2.5.Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj selon le sexe de 2015 à 2016.....	70
2.6.Incidence de <i>Klebsiella</i> spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj selon la nature du prélèvement de 2015 à 2016.....	72
2.7.Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella</i> spp. isolées des hôpitaux de BBA de janvier 2015 à février 2016.....	74
2.8.Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de <i>Klebsiella pneumoniae</i> selon la nature du prélèvement : AFC.....	82
3. Conclusion et Perspectives.....	89
Liste des références.....	90
Annexes.....	



Introduction

Introduction

Les antibiotiques ont connu un développement considérable jusqu'au milieu des années 1980, nous permettant d'obtenir un très large panel de molécules, aux mécanismes d'action, spectres d'activité et propriétés pharmacocinétiques très divers. Au même temps, les mécanismes de résistance développés par les bactéries pour résister aux antibiotiques se sont multipliés et diversifiés, aboutissant à l'émergence et à la dissémination de bactéries multirésistantes (CALOP et al., 2012). Les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames), constituent la famille d'antibiotiques la plus prescrite dans le monde. Dès le début de leur utilisation extensive, dans les années 1940, ces antibiotiques ont été confrontés au contre-point de la résistance, avec l'apparition dès 1942 de la première souche de *S. aureus* résistante à la pénicilline par production de pénicillinase (GRALL et al., 2011).

L'utilisation intensive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi comme supplément alimentaire peut conduire à la sélection des bactéries possédant des mécanismes de résistance naturels ou ayant la capacité de les acquérir. Les mécanismes de résistance décrits, et parfois associés, sont pour les β -lactamines : la diminution d'affinité de la cible (PLP), la diminution de la perméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, l'expression d'une pompe d'efflux actif et l'inactivation enzymatique par une β -lactamase (GAUTIER 2007).

Klebsiella pneumoniae est un pathogène nosocomiale appartenant à la famille des entérobactéries, il est parmi les bactéries constituant la flore intestinale de l'être humain (CAO et al., 2014). Avec leurs multirésistance évoluées, les espèces de *Klebsiella* représentent une cause importante de morbidité et de mortalité en milieu hospitalier. *Klebsiella pneumoniae* se propage manifestement de manière épidémique et est responsable d'infections nosocomiales sévères et difficiles à traiter. La mise en évidence du caractère épidémique de l'infection est importante pour la mise en œuvre rapide des mesures préventives (ARAFI et al., 2009). Le danger des espèces de *Klebsiella* se manifeste dans leurs acquisition des mécanismes conférant une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques étaient considérés comme la solution des infections nosocomiales, par exemple on cite les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE), les oxacillinases et les carbapénémases.

Des études internationales de surveillance ont confirmé l'ampleur de la production des BLSE chez *K. pneumoniae*. Parmi les pays d'Afrique du Nord, l'Égypte semble avoir la prévalence de *K. pneumoniae* BLSE la plus élevée. L'incidence des BLSE parmi les souches de *K. pneumoniae* en Égypte varie entre 58 et 67%. *K. pneumoniae* semble être l'espèce prédominante en Tunisie avec une prévalence variant de 10 à 32,4% pouvant atteindre 87,5%

dans les unités de soins intensifs pédiatriques. La prévalence des souches de *K. pneumoniae* BLSE est de 19,9% en Algérie. En Amérique du Sud, la prévalence des BLSE produites par *K. pneumoniae* atteint jusqu'à 43,7 % (EL HANI et al., 2011).

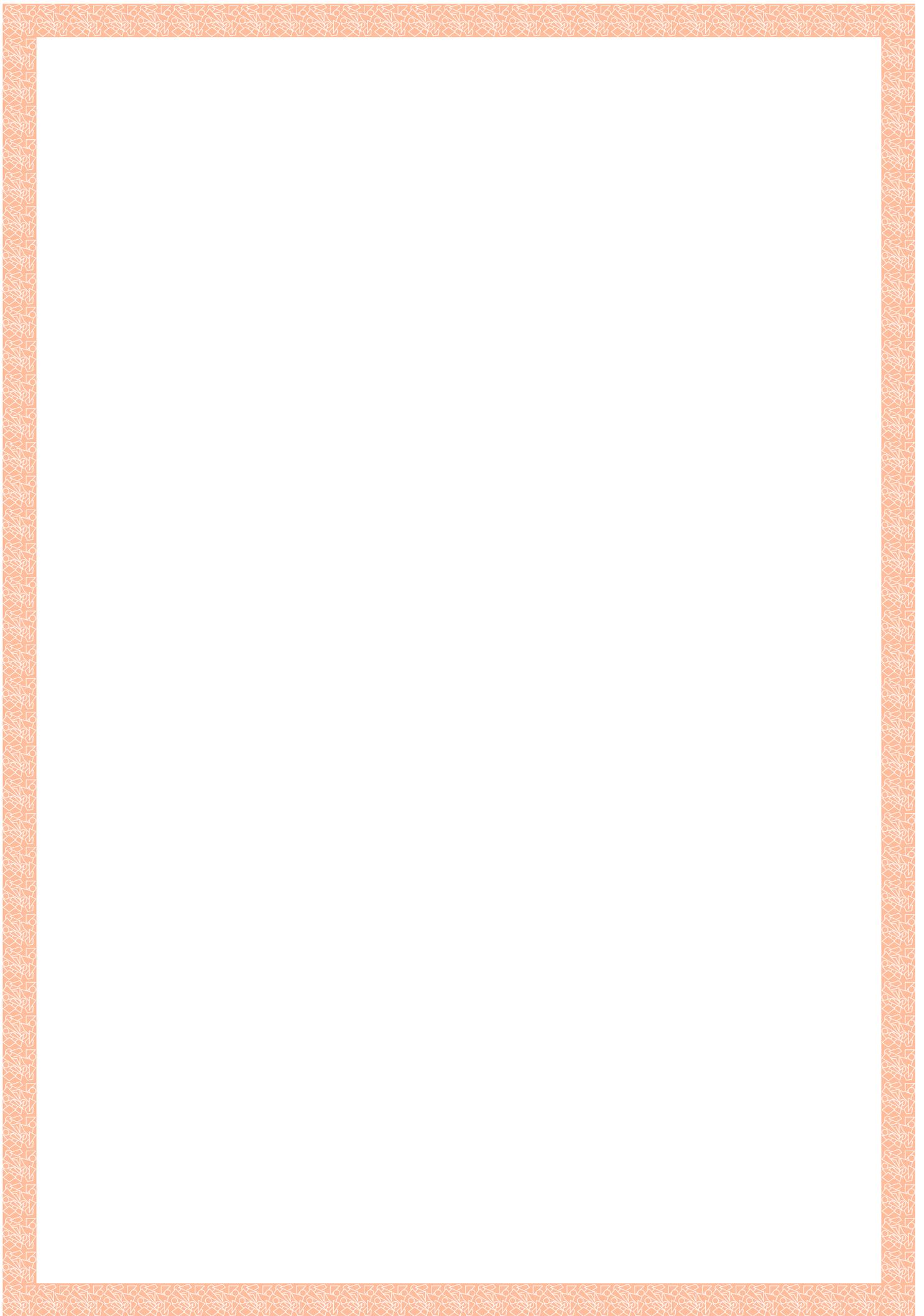
Les carbapénèmes sont un des quelques antibiotiques efficaces contre les germes multirésistants, mais leur utilisation est menacée par l'émergence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce carbapénème-résistante la plus connue dans les États Unis, elle est considérée typiquement résistante à la majorité des antibiotiques disponibles. Les enzymes hydrolysant les carbapénèmes sont un grand type de mécanismes de résistance chez cette bactérie, la bêtalactamase-serine-KPC connue depuis 2001, devenue l'enzyme la plus connue aux États Unis et autres pays (Hudson et al., 2014). La première apparition des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices des carbapénémase de type OXA-48 a été décrite en Turquie l'an 2004. Par la suite, d'autres isolats producteurs d'OXA-48 ont été rapportés partout dans le monde principalement dans la région de méditerranée qui devient un réservoir majeur de l'antibiorésistance. En Algérie, la première détection de *Klebsiella* productrices des carbapénémase était en 2011 à l'hôpital militaire de Constantine (AGGOUNE et al., 2014).

Face à ces événements troublants pour la santé publique, nous nous sommes intéressés à isoler et étudier l'antibiorésistance des espèces de *Klebsiella* isolées dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj dans l'hôpital central Bouzidi Lakhdhar et l'établissement public de santé de proximité de la commune de Medjana. Puis, expliquer à l'aide de la bibliographie scientifique les mécanismes de résistance d'un point de vue moléculaire. Ensuite, faire une étude des profils de résistance des espèces de *Klebsiella* afin d'assembler un groupe de caractères phénotypiques de résistance avec les prélèvements associés.

Pour mener ces objectifs, les actions suivantes ont été réalisées :

- Etude de l'incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. de janvier 2015 à février 2016.
- Etude des mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques et confrontation des résultats par rapport aux travaux en Algérie et dans le monde.
- Etude des corrélations entre la nature des prélèvements et les profils de résistance aux antibiotiques, par l'analyse de la distribution spatiale et les associations des phénotypes de résistance aux prélèvements, en utilisant l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC).

Partie I :
Recherche
Bibliographique



Chapitre I : Généralités sur le genre *Klebsiella* spp.

1. Présentation du genre

Les Entérobactéries constituent une famille hétérogène de bactéries Gram-négatif qui est fréquemment impliquée dans les infections humaines. Elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces (LAGHA 2015).

L'un des genres des entérobactéries les plus impliqués dans le sujet de santé est *Klebsiella*. Les espèces de ce genre constituent l'un des facteurs majeurs aux infections nosocomiales dans les milieux hospitaliers, le genre *Klebsiella* a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19ème siècle. L'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*, connue autre fois sous le nom de pneumobacille de Friedlander. Ce dernier avait décrit cette bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie (BELBEL 2014).

Ce sont des espèces ubiquitaires, et fréquemment isolées de l'environnement (eaux usées, sol, etc.) et de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoires supérieures. Au cours des infections nosocomiales le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales de contamination (LAGHA 2015).

2. Classification de l'espèce

Selon *Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology* 1994 (SEKHRI 2011). La classification classique établis pour le genre *Klebsiella* est la suivante :

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Entérobactériaceae</i>
Genre	<i>Klebsiella</i>

Le genre *Klebsiella* comporte sept espèces *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. ornitholytica*. Dont l'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* (KONE 2010).

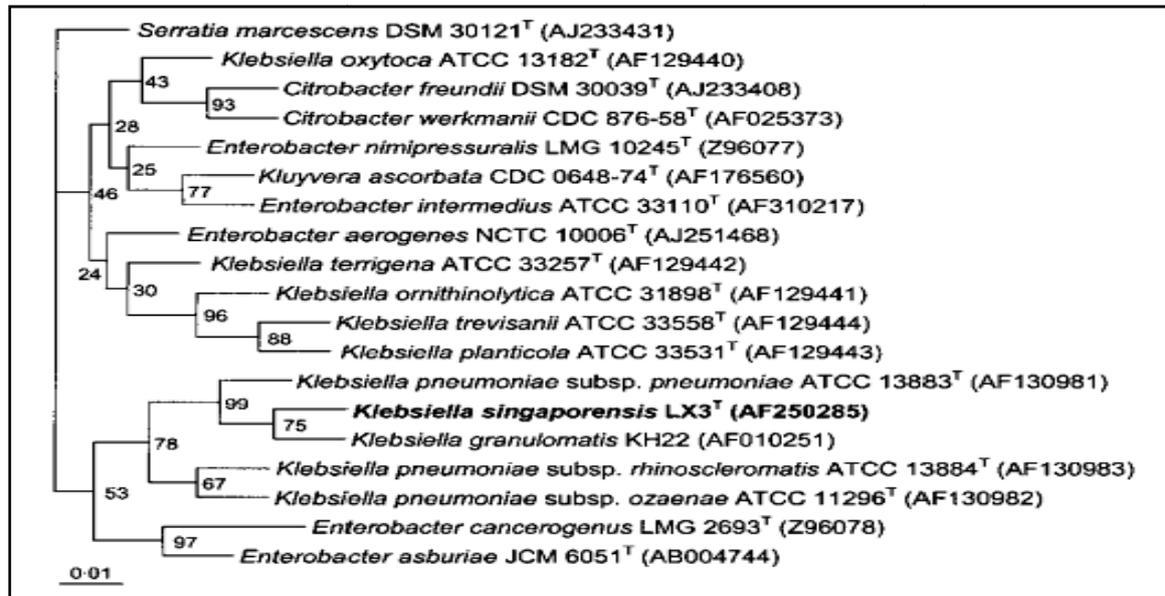


Figure 1. Arbre phylogénétique présentant la position de *Klebsiella* parmi les espèces des Entérobactéries. L'arbre est généré par la méthode Neighbour Joining avec test Bootstrap (LI et al., 2004).

3. Bactériologie de l'espèce

1. Caractères généraux

1.1 Caractères morphologiques

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bacilles immobiles, à Gram négatif, de 0.3 à 1.0µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur. Se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courtes chaînes. Ce sont des bactéries non sporulées, avec des colonies à aspect muqueux (LAGHA 2015).

1.2 Caractères cultureux

Comme chez toutes les entérobactéries, les espèces du genre *Klebsiella* sont capables de pousser sur milieux ordinaires. Son métabolisme respiratoire est aérobie-anaérobie facultatif. Après 24 heures d'incubation à une température ambiante de 37°C les colonies apparaissent d'un aspect rond, bombé, brillant et très visqueux due à la présence de la capsule (CLAVE 2013).

Ils peuvent être cultivés sur les milieux classiquement utilisés pour les entérobactéries: gélose nutritive, gélose trypticase soja, gélose au sang, gélose au MacConkey, gélose

lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP), gélose éosine bleu de méthylène (EMB), gélose de Drigalski, Hecktoen, etc. (SEKHRI 2011).



Figure 2. Aspect des colonies de *Klebsiella* sur gélose MacConkey (ANONYME 2016).

2. Caractères biochimiques

Les espèces du genre *Klebsiella* présentent la majorité des caractères de la famille des entérobactéries. Ils ont un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucuronidase négative, n'hydrolysant ni l'ADN ni le Tween 80, ne produisant pas d'hydrogène sulfuré et fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. Réaction de VP positive et uréase + mais dans certains cas on peut obtenir des variétés de *Klebsiella pneumoniae* (SEKHRI 2011). Le Tableau 1 présente les caractères des espèces de genre *Klebsiella*.

Tableau 1. Caractères biochimiques d'identification des espèces de *Klebsiella* spp. et des subsp. *K. pneumoniae* (CLAVE 2013).

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Raoultella terrigena</i>	<i>Raoultella planticola</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
	Subsp. <i>pneumoniae</i>	Subsp. <i>ozaenae</i>	Subsp. <i>rhinosleromatis</i>				
indole	-	-	-	+	-	v	+
ODC	-	-	-	-	-	-	+
LDC	+	v	-	+	+	+	+
VP	+	-	-	+	+	+	+

V : caractère variable. + : caractère positif. - : caractère négatif

Le Tableau 2 présente les caractères principaux des genres des entérobactéries qui permettent la distinction de *Klebsiella* des autres genres d'entérobactéries

Tableau 2. Principaux caractères des genres des entérobactéries (DECOSTER 2008).

	<i>Esch</i>	<i>Citr</i>	<i>Ent</i>	<i>Kleb</i>	<i>Serr</i>	<i>Salm</i>	<i>Shig</i>	<i>Prot</i>	<i>Prov</i>	<i>Yers</i>
Gluc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lact	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
NP6	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
ndole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+ *
Citr	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mob.	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+ *
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H ₂ S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

* à 20°C seulement

L'espèce type de *Klebsiella pneumoniae* peut être définie comme une Entérobactérie immobile, VP+, RM -, uréase + lentement (uréase moins active que celle des Proteus), ONPG +, β-xylosidase +, H₂S -, indole -, désaminase oxydative -, LDC +, ODC -, lipase, DNase et gélatinase -, KCN +, fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de Simmons et le malonate (KONE 2010).

3. Structure antigénique

K. pneumoniae possède des antigènes communs avec ceux portés par les autres entérobactéries excepté l'antigène flagellaire du fait de son immobilité :

- Antigènes « O » somatiques : la recherche des antigènes « O » présente peu d'intérêt pratique, en raison de la difficulté de leur détermination par suite du caractère thermostable des antigènes capsulaires
- Antigènes « K » capsulaires : au moins 77 antigènes K ont été décrites chez *K. pneumoniae*, K1 à K72, K74, K79 à K82. Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent aux types capsulaires 1 et 2, plus rarement 3 et 4.

- Antigène d'adhérence : appelé fimbriae, de nature protéique, porté par des pili communs (BELBEL 2014).

4. Habitat et écologie

Les espèces du genre *Klebsiella* sont très répandues dans la nature. Par exemple *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont réparties dans la nature, on peut les isoler de l'eau, des végétaux, d'aliments divers. Ces deux espèces sont rencontrées dans la flore fécale de 30% à 40% des animaux sauvages ou domestiques et de l'homme; elles végètent sur la peau, les muqueuses et les voies respiratoires supérieures.

Pratiquement, *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella rhinoscleromatis* ne sont isolées que de l'arbre respiratoire de l'homme (KONE 2010).

5. Epidémiologie

Les entérobactéries produisent la plus grande variété des infections quelque soit le genre, ils sont beaucoup plus responsables des infections liées aux hôpitaux (infections nosocomiales) ou d'autres infections sur différents niveaux du corps humain.

Les espèces incluses dans le genre *Klebsiella* sont capables d'être responsables d'infection communautaires généralement dans le tractus uro-génital ou respiratoire ou être responsable d'autres infections nosocomiales tels les infections urinaires, les broncho-pneumonies aigues ou des septicémies (KENNETH et al., 2004).

Les espèces du genre *Klebsiella* sont d'importants pathogènes communs à l'origine de pneumonies nosocomiales (7 à 14 % de tous les cas), de septicémies (4 à 15 %), d'infections urinaires (6 à 17 %), d'infections de plaies (2 à 4 %), d'infections survenant dans les unités de soins intensifs (USI) (4 à 17 %) et de septicémies néonatales (3 à 20 %). Elles peuvent également causer des bactériémies et des infections hépatiques et ont été isolées dans un grand nombre d'infections inhabituelles, notamment des cas d'endocardite, d'abcès médiastinal primaire gazeux, de péritonite, de cholécystite aiguë, de myonécrose crépitante, de pyomyosite, de fasciite nécrosante, d'abcès du psoas, d'infection de l'espace fascial au niveau de la tête et du cou, et d'arthrite septique. Particulièrement ; le portage étant fortement accru chez les patients hospitalisés pendant de longues périodes ou bénéficiant de traitements antibiotiques au long cours, on peut les trouver aussi chez les

immunodéprimées ou les nouveau-nées où ils engendrent des infections néo-natales (ANONYME 2 2011).

La grande pathogénicité de *Klebsiella pneumoniae* est due à plusieurs facteurs tels que des adhésines, des sidérophores, des polysaccharides capsulaires, des lipopolysaccharides de surface cellulaire (LPS) et des toxines, chacun de ces facteurs joue un rôle bien précis au sein de la détermination de la pathogénicité qui rendent *Klebsiella* l'un des plus dangereuses espèces dans le monde. Dans le tractus respiratoires les espèces de *Klebsiella* sont responsables de plusieurs infections avec différents degrés de perspicacité.

Klebsiella rhinoscleromatis est responsable du sclérome trachéale ou le rhinosclérome. Une maladie granulomateuse spécifique d'origine bactérienne, localisé électivement aux voies respiratoires, surtout au niveau des fosses nasales. La localisation trachéale est rare sinon exceptionnelle. Son évolution spontanée est lente, aboutissant à des lésions cicatricielles mutilantes et sténosantes (HERRAK et al., 2009).

La première description de rhinosclérome est faite par Von Hebra en 1870. Mikulicz met ensuite en évidence les cellules spumeuses au sein du tissu scléromateux, en 1877, et, en 1882, Von Frisch isole dans les sécrétions nasales l'agent pathogène, un diplobacille encapsulé. En 1933, le II^e congrès international de laryngologie, à Madrid, adoptera le terme de sclérome, qui prend mieux en compte les multiples localisations de la maladie (ELOLA et al., 2012).

Le rhinosclérome semble peu contagieux ; il se transmettrait par contact direct ou indirect au stade initial de rhinite. Pour le traitement de cette maladie et à cause de la tendance à la chronicité, et à la récurrence il est conseillé d'utiliser des antibiotiques à bonne pénétration cellulaire et bonne efficacité vis-à-vis l'agent pathogène *Klebsiella rhinoscleromatis* comme les fluoroquinolones ou le Triméthoprime-sulfaméthoxazole (HYAMS et al., 1988).

Une autre maladie qui affecte le système respiratoire est la pneumonie communautaire aigue, une maladie due à *Klebsiella pneumoniae* et qui affecte dans la majorité des cas des immunodéprimés ou des enfants. Chez ces derniers elle est la maladie la plus meurtrière par un taux de victime plus que du sida et paludisme et la rougeole (Figure 3). Plus de 2 millions enfants meurent chaque année.

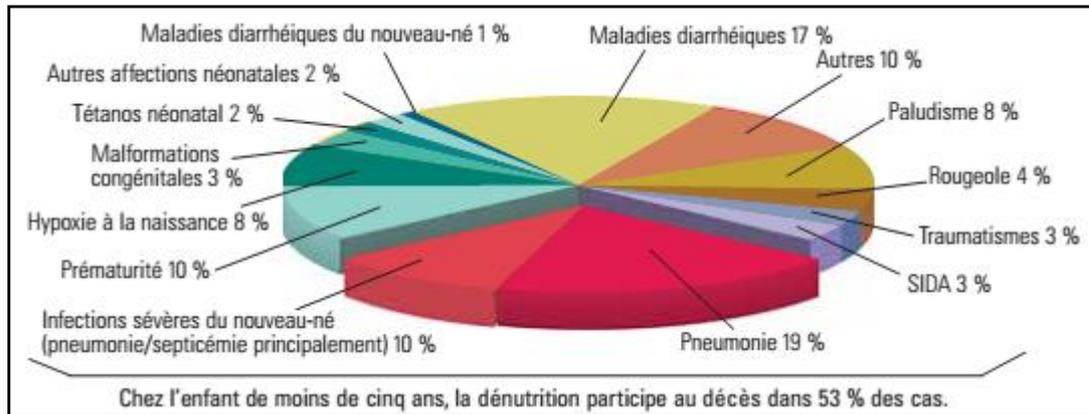


Figure 3. Répartition des causes de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans dans le monde (WARDLAW et al., 2004).

La pneumonie est une forme grave d'infection aiguë des voies respiratoires basses qui s'attaque spécifiquement aux poumons. Les personnes atteintes de pneumonie peuvent présenter divers symptômes selon leur âge et la cause de l'infection. Les pneumonies bactériennes provoquent en général une forte fièvre et une accélération de la respiration. Les pneumonies virales, en revanche, apparaissent souvent progressivement et peuvent s'aggraver avec le temps.

Pour le traitement de cette maladie il faut une antibiothérapie complète et adaptée, Le co-trimoxazole et l'amoxicilline sont les deux antibiotiques les plus utilisés dans ces cas de pneumonies (WARDLAW et al., 2004).

Aussi bien dans les poumons il y a une maladie dite " abcès pulmonaires" ou "suppurations pulmonaires". Il s'agit d'une agression du parenchyme pulmonaire par des germes pyogènes aboutit à la suppuration et à la formation de pus. Pour le traitement de ces abcès les médecins prescrit généralement des céphalosporines de 3eme génération associé a un aminoside et a du metronidazole.

Une autre cible pour être infecté par *Klebsiella* est le système nerveux central. Les infections les plus connues sont les méningites bactériennes et les abcès cérébraux.

Les méningites bactériennes sont des infections aiguës, menaçant la vie, et pouvant entraîner des complications sévères à long terme. Le pronostic final est fonction tout autant de la précocité du diagnostic que d'un traitement agressif et ciblé. L'inflammation des méninges résulte le plus souvent, du passage des bactéries du sang dans les méninges à la suite d'une rupture de la barrière hémato-encéphalique.

L'antibiothérapie reste le fondement essentiel du traitement, mais depuis quelques années, les recommandations quant aux antibiotiques de première intention ont été modifiées suivant l'apparition du phénomène de résistance chez les agents responsables de méningites (BOUCHER 2015).

Les abcès cérébraux sont des suppurations focales dues à une infection bactérienne et développées au sein du parenchyme cérébral. Bien que ce terme ait été utilisé aussi dans les infections fongiques ou parasitaires, nous nous limitons aux infections bactériennes non tuberculeuses. Les empyèmes sont des collections suppurées, cloisonnées, extra-cérébrales.

Les abcès et les empyèmes sont plus fréquents dans le sexe masculin, avec une sex-ratio de l'ordre de trois hommes pour deux femmes. Les abcès se rencontrent à tout âge, malgré une fréquence plus élevée avant 40 ans, 25 % des cas survenant avant 15 ans.

Klebsiella est beaucoup plus rencontrée dans les abcès cérébraux postopératoires avec plusieurs autres bactéries comme *Proteus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, et *Pasteurella multocida* (LEYS 2011).

Un autre organe dans le corps humain connu comme une cible à être infecté par *Klebsiella* est le foie. Les pseudotumeurs inflammatoires du foie sont des proliférations fibroblastiques, plus ou moins fibreuses, infiltrées de cellules inflammatoires polymorphes de nature réactionnelle. Leur première description a été réalisée par Pack et Baker en 1953.

Les PTI du foie affectent principalement les enfants et les adultes jeunes; elles se situent préférentiellement dans le foie droit (53% des cas). Aussi l'homme est plus souvent atteint que la femme en cas de PTI du foie. Ils sont associés à des douleurs abdominales, fièvre associée à une inflammation (50% des cas) et plus rarement des nausées, des vomissements ou un ictère.

Différents germes ont été isolés au sein de certaines lésions de pseudotumeurs inflammatoires du foie (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, et autres parasites (LUPESCU et al., 2016).

Dans le tractus urinaire, *Klebsiella* peut engendrer des infections urinaires à raison de leur prolifération dans l'appareil urinaire. La pénétration de ces germes se fait presque toujours par voie basse; elle est suivie d'une propagation ascendante. Cette propriété explique que l'IU soit une maladie à forte prédominance féminine.

Occasionnellement, l'IU peut avoir des conséquences graves. La pyélonéphrite aiguë, souvent bruyante, toujours dangereuse (notamment au cours de la grossesse) exprime la propagation de l'infection au parenchyme rénal. Les infections urinaires sont à l'origine de plus de 50% des septicémies qui surviennent en milieu hospitalier et dont la mortalité demeure élevée. Elles constituent le deuxième motif de prescription d'antibiotiques, après les infections respiratoires.

L'IU est cinq fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme. Cette dominance est due à des facteurs facilitant propres à la femme, alors que les IU secondaires à des uropathies sont en nombre absolu à peu près égal dans les deux sexes.

Dans plus de 90% des cas, l'uroculture met en évidence une seule espèce bactérienne, dont la nature traduit l'origine digestive de la flore infectante : 80% *E. coli* et 20% pour d'autres entérobactéries tels *Klebsiella*, *Proteus* (FOURCADE 2006).

Pour prévenir ce type des infections urinaires, il est bien conseillé d'obtenir une bonne hygiène surtout chez les femmes. Dans le cas d'infection il est conseillé de prendre une antibiothérapie adéquate selon le germe infectant.

Il y a autres types des infections dues à *Klebsiella* tels que le donovanose ou le granulome inguinal ou granulome vénérien qu'il s'agit d'une maladie bactérienne caractérisée par des ulcères génitaux douloureux, qu'on peut confondre avec ceux de la syphilis. Elle se traite avec le Triméthoprime/sulfaméthoxazole ou la doxycycline (MELANÇON 2007).

On peut citer aussi des arthrites à *Klebsiella pneumoniae* qui sont rares mais peut détruire l'articulation en provoquant un handicap définitif. Elle affecte beaucoup plus des personnes immunodéprimées. Une évolution remarquable dans l'état de cette maladie peut être obtenue grâce à un traitement par Méropénème et Amikacine associé d'un lavage arthroscopique précoce de l'articulation (SCHELENZ et al., 2011).

6. Prévention de la résistance aux antibiotiques

Depuis leur découverte il y a plus de 70 ans, les antibiotiques sont essentiels pour traiter les infections bactériennes. Une antibiorésistance survient lorsque les bactéries évoluent en réponse à l'usage de ces médicaments. L'antibiorésistance est accélérée par l'usage abusif et excessif des antibiotiques, mais aussi par de mauvaises pratiques de prévention et de

lutte contre l'infection. Des mesures peuvent être prises à tous les niveaux pour réduire l'impact de cette résistance et en limiter la propagation (BEN MOUSSA 2016).

Chacun peut contribuer à cet effort en prenant les règles suivantes :

- pratiquez les règles de bonne hygiène pour prévenir les infections en se lavant régulièrement les mains.
- évitez l'automédication et n'utilisez jamais un antibiotique que lorsque votre médecin vous l'a prescrit.
- respectez strictement votre ordonnance et suivez jusqu'au bout le traitement prescrit.
- ne donnez jamais votre antibiotique à une autre personne, il n'est peut-être adapté à sa maladie.

Chapitre 2 : Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*

La notion antibiotique peut être définie par toute substance, naturelle ou synthétique, capable d'inhiber *in vivo* le développement des bactéries. Selon qu'ils sont actifs contre beaucoup ou peu de germes, on les divise en antibiotiques à large spectre ou à spectre étroit. On peut également les classer en antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides selon qu'ils enrayent la multiplication des germes ou qu'ils en assurent la destruction. Les antibiotiques sont divisés en familles dont les principales sont : les Bêtalactamines, les Aminosides, les Phénicolés, les Cyclines, les Macrolides, les Rifamycines, les Glycopeptides, les Imidazoles, etc. (QUEVAUVILLIERS et al., 2011).

La Pénicilline, premier antibiotique à usage clinique, est produite par *Penicillium notatum*, sa découverte fortuite résulte de l'observation par Fleming en 1929 du pouvoir inhibiteur d'une colonie de ce champignon vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* lors d'une contamination accidentelle d'une plaque de Pétri (VAN BAMBEKE et TULKENS 2008).

Après cette première invention et dans les années suivant la seconde guerre mondiale, d'autres antibiotiques majeurs furent découverts tels que la Polymyxine B (1947) produite par *Bacillus polymyxa*, le Chloramphénicol (1948) sécrété par *Streptomyces venezuelae*, la Tétracycline (1948), l'Erythromycine (1952), la Vancomycine (1956), la Kanamycine (1957), la Lincomycine (1962), etc., élaborés par diverses espèces de *Streptomyces* (AOUICHE 2010). Tous ces molécules d'antibiotique ont été découverts afin de limiter le spectre des infections bactériennes.

1. Les principales familles des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés selon plusieurs caractères tels le site d'action où les antibiotiques sont classés selon la cible moléculaire sur laquelle ils agissent, Selon le type d'action où les antibiotiques sont classés en bactéricides ou fongicides et bactériostatiques ou fongostatiques, Selon leur spectre d'action, les antibiotiques peuvent avoir un spectre large (ex: Tétracyclines), moyen (ex: Erythromycine) ou très étroit (ex: Novobiocine) (AOUICHE 2013). Une famille rassemble les molécules ayant la même structure chimique de base. Les familles peuvent être divisées en groupes et sous-groupes en fonction des modifications de la structure chimique, qui apportent des changements du spectre d'activité ou des propriétés pharmacologiques (ONDENOT 2009).

Les cibles principales des antibiotiques sont représentées dans la Figure 4 et les principales familles des antibiotiques dans le Tableau 3.

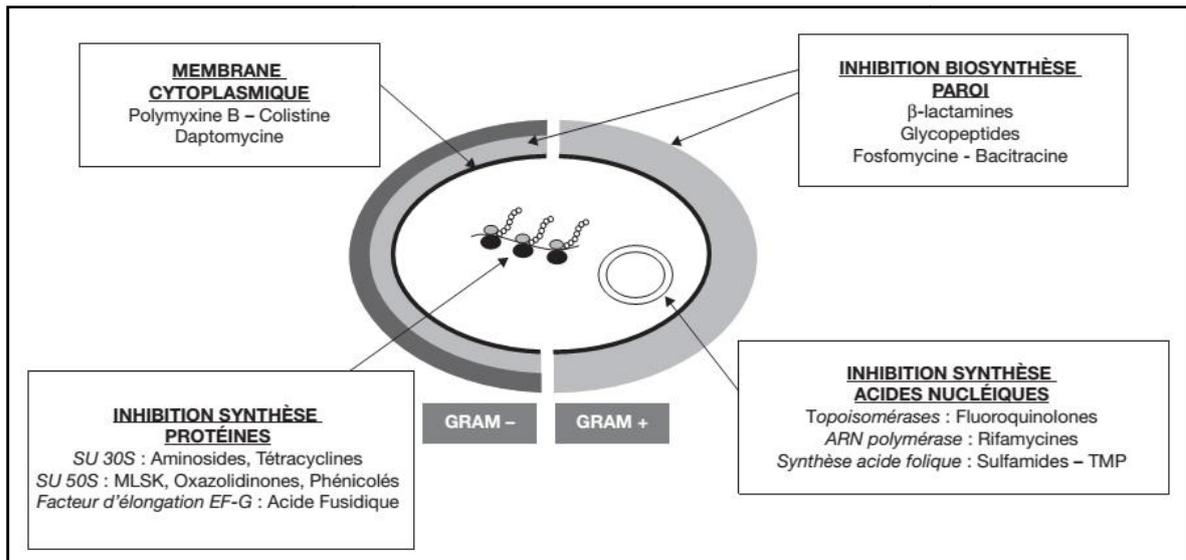
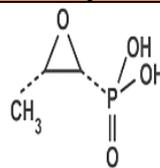
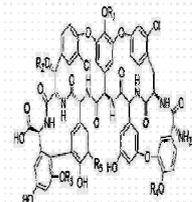
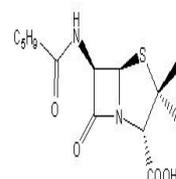
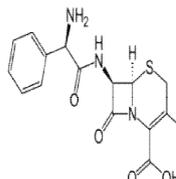
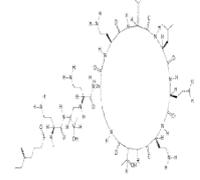
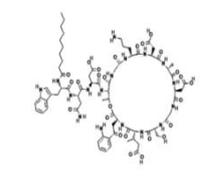


Figure 4. Cibles des principales familles des antibiotiques (CALOP et al., 2012).

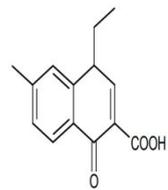
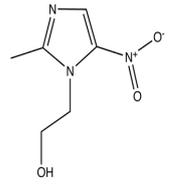
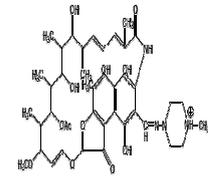
Tableau 3. Les principales familles des antibiotiques utilisées pour le traitement des infections bactériennes de l’homme (VAN BAMBEKE et TULKENS 2008; MAMMERI 2016).

Cible : Synthèse de la paroi cellulaire					
Classe	Exemple	Origine	Structure chimique	Mode d'action	Spectre
Fosfomycine	Fosfomycine	<i>Streptomyces fradiae</i>		Bactéricide : inhibe la conversion de l'UDP-N-acétylglucosamine en acide UDP-N-acétylmuramique	Large : Cocci G+ Cocci G- Bacille G+ Bacille G-
Glycopeptides	Téicoplanine	<i>Actinoplanes teichomyceticus</i>		Bactéricide : inhibe les décarboxylases, transglycosylases et les transpeptidases	Étroit : Bactéries G+
β-Lactamines	Pénicilline	<i>Penicillium chrysogenum</i>		Bactéricide : inhibe les protéines liant la pénicilline (PLP) qui synthétisent la paroi	Étroit : Cocci G+ Cocci G- Bacille G+
Céphalosporine	Céfalexine	Synthèse chimique		Bactéricide : Inhibition de la Transpeptidases	Étroit : Cocci G+ Bacille G+

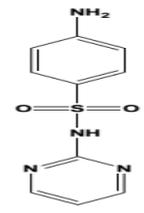
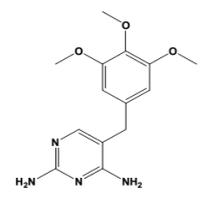
Partie I : Recherche bibliographique

Polymyxine	Colistine	<i>Bacillus polymyxa</i>		Bactéricide : Incorporation a l'intérieur de bicouche lipidique	Étroit : Bactérie G -
Lipopeptides	Daptomycine	<i>Streptomyces roseosporus</i>		Bactéricide : Formation de canaux ioniques et dépolarisation membranaire	Etroit : Bactérie G+

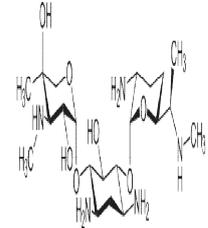
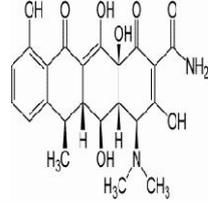
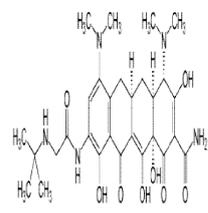
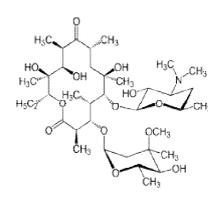
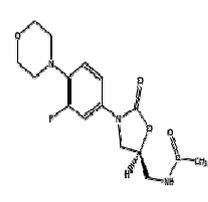
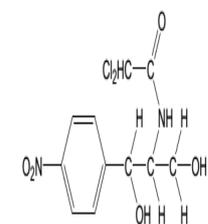
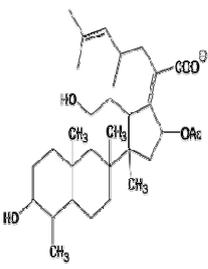
Cible : Synthèse des Acides nucléiques

Classe	Exemple	Origine	Structure chimique	Mode d'action	Spectre
Quinolones	Acide Nalidixique	Synthèse chimique		Bactéricide : Inhibition de la synthèse de l'ADN par inhibition des topoisomérase II et IV	Etroit : Bactérie G-
Imidazolés	Metronidazole	Synthèse chimique		Bactéricide : oxydation et coupure des brins d'ADN	Etroit : Bactéries aérobies
Ansamycine	Rifampicine	<i>Streptomyces nocardia mediterranei</i>		Bactéricide : fixent sur la sous-unité β de l'ARN polymérase	Etroit : Bactérie G+

Cible : Métabolisme de l'Acide Folique

Classe	Exemple	Origine	Structure chimique	Mode d'action	Spectre
Sulfamides	Sulfadiazine	Synthèse chimique		Bactériostatique : Inhibition de la dihydrofolate synthétase	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Diamino-pyridines	Triméthoprime	Synthèse chimique		Bactériostatique : Inhibition de la dihydrofolate réductase	Large : Bactérie G + Bactérie G -

Partie I : Recherche bibliographique

Cible : synthèse des protéines					
Classe	Exemple	Origine	Structure chimique	Mode d'action	Spectre
Aminosides	Gentamicine	<i>micromonospora purpureochromogene</i>		Bactéricide : Fixation sur la sous unité 30s du ribosome et altération de sa structure	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Tétracyclines	Doxycycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i>		Bactériostatiques : inhibition de la sous unité 30S des ribosomes.	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Glycylcycline	Tigécycline	Synthèse chimique		Bactériostatiques : inhibition de la sous unité 30S des ribosomes.	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Macrolides	Erythromycine	<i>Streptomyces erythreus</i>		Bactériostatique : Fixe sur la sous unité 50S et inhibe la synthèse protéique	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Oxazolidinone	Linézolide	Synthèse chimique		Bactéricide : empêche l'assemblage ultérieur des sous unité 30S et 50S	Etroit : Bactérie G+
Phénicolés	Chloramphénicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>		Bactériostatique : fixation sur le site A au niveau de la sous-unité 50S	Large : Bactérie G + Bactérie G -
Acide fusidique	Acide Fusidique	<i>Fusidium coccineum</i>		Bactéricide : Stabilisation du complexe ribosome-facteur d'élongation	Etroit : Bactérie G+

Les Céphalosporines présentent une famille d'antibiotiques isolés en 1948 à partir du champignon *Cephalosporium*. Leur structure est très similaire à celle des pénicillines. Comme on pouvait s'y attendre de leurs similitudes structurales, les Céphalosporines ressemblent aux Pénicillines dans l'inhibition de la réaction de transpeptidation lors de la synthèse du peptidoglycane. Ils sont des médicaments à large spectre fréquemment donnés aux patients souffrant d'allergies à la pénicilline (PRESCOTT 2002).

Les Céphalosporines constituent environ 50% des antibiotiques bêta-lactamines. Ces dérivés peuvent être divisés en quatre générations (bien que la controverse entoure la classification de quatrième génération) (NOVELLI et al., 2000). Le Tableau 4 résume la classification des céphalosporines.

Tableau 4. Classification des céphalosporines en générations (CALOP et al., 2012).

Génération	Exemple	Spectre
1 ère génération	Céfadroxil Céfatrizine Céfaclor Céfazoline Céfalexine	Spectre limité aux Bactéries à Gram +
2 ème génération	Céfamandole Céfuroxime	Bactérie a Gram+ et Bacilles à Gram -
3 ème génération	Céfotaxime Céftazidime Céftriaxone Céfixime Céfpodoxime Céfotiam	Bacilles a Gram - Cocci a Gram - Cocci a Gram +
4 ème génération	Céfépime Céfprome	Bacilles a Gram - Cocci a Gram - et Cocci a Gram +

Tableau 5. Les principales familles des antibiotiques utilisées en Algérie (ANONYME 3, 2015).

Famille	Exemple	Abréviation
Bêtalactamines	Pénicilline	PEN
	Oxacilline	OXA
	Ampicilline	AMP
	Amoxicilline	AMX
	Amoxicilline + Ac Clavulanique	AMC
	Ticarcilline	TIC
	Ticarcilline + Ac.clavulanique	TCC
	Pipéracilline	PIP
	Céfalexine	LEX
	Céfazoline	CZO
	Cefalotine	CEF
	Céfoxitine	FOX
	Céfotaxime	CTX
	Ceftriaxone	CRO
	Ceftazidime	CAZ
Aztréonam	ATM	
Imipénème	IPM	
Aminosides	Gentamycine	GEN
	Gentamycine à haut niveau	GEH
	Streptomycine à haut niveau	STH
	Kanamycine	KAN
	Amikacine	AMK
	Tobramycine	TOB
Netilmicine	NET	
Cyclines	Tétracycline	TCY
	Doxycycline	DOX
Macrolides	Erythromycin	ERY
	Azithromycine	AZM
	Clindamycine	CLI
	Pristinamycine	PRI

	Spiramycine	SPI
Phénicolés	Chloramphenicol	CHL
Polypeptides	Colistine	COL
Glycopeptides	Vancomycine	VAN
	Téicoplanine	TEC
Sulfamides et associés	Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	SXT
Quinolones	Acide nalidixique	NAL
	Ofloxacine	OFX
	Ciprofloxacine	CIP
	Lévofloxacine	LVX
Nitrofurantoines	Furanes	NIT
Autres	Acide fusidique	FUS
	Rifampicine	RIF
	Fosfomycine	FOS

2. Développement de la résistance chez *Klebsiella pneumoniae*

Le Réseau Européen de Surveillance de Résistance aux Antibiotiques (EARS-Net, anciennement EARSS), collecte depuis 1998 des données sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en santé humaine en Europe. Depuis 2010, ce réseau de surveillance est coordonné par l'ECDC. Les bactéries cibles de cette surveillance sont *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* depuis 1999, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* depuis 2001, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* depuis 2005, *Acinetobacter* spp. depuis 2012. Toutes ces espèces sont responsables d'infections nosocomiales (ANONYME 4, 2014).

Pour *Klebsiella pneumoniae*. Ce réseau a focalisé les données de résistance aux antibiotiques à partir l'année 2005 jusqu'à 2014 principalement pour 4 principales familles qui sont :

Les aminoglycosides

Les fluoroquinolones

Les céphalosporines de 3^{ème} génération et les carbapénèmes (Figure 05).

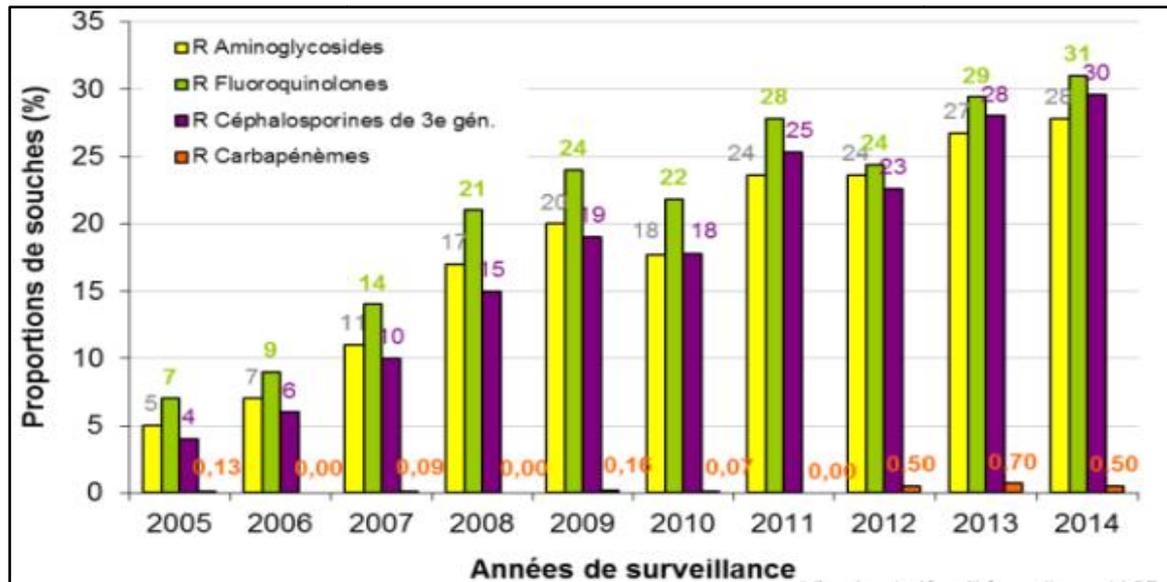


Figure 5. Développement de la résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae* depuis l'année 2005 (ANONYME 4, 2014).

3. Types de résistance

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches alors que la résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée (SEKHRI 2011).

1. Résistance naturelle de *Klebsiella pneumoniae*

La résistance naturelle à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance (LAGHA 2015).

Klebsiella pneumoniae présente une résistance naturelle à Ampicilline et à Ticarcilline par production d'une β -lactamases chromosomique naturelle; la pénicillinase de bas niveau de type SHV-1 inhibée par l'Acide Clavulanique et le Tazobactam. La résistance est bien détectée pour l'Amoxicilline et la Ticarcilline, par contre la Pipéracilline doit s'interpréter I si elle apparaît S (CLAVE 2013).

2. Résistance acquise de *Klebsiella pneumoniae*

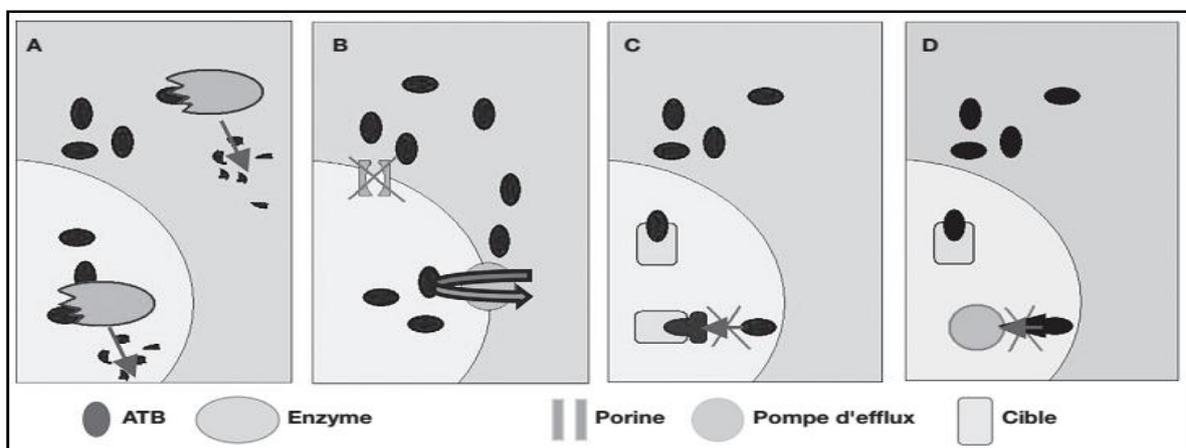
Les phénotypes de résistance acquis chez *Klebsiella pneumoniae* résultent souvent de l'acquisition de plusieurs types des enzymes hydrolysant dont la grande famille et celle des β -lactamases.

Klebsiella pneumoniae a été la première espèce chez laquelle une BLSE a été décrite en 1983. La BLSE est caractérisée par une extension de la résistance aux Céphalosporines de 3ème, 4ème générations et à l’Aztréonam; la Céfoxitine et les Carbapénèmes restent actives. Les premières BLSE décrites dérivent des pénicillinases de type TEM ou SHV par changement d’un ou deux acides aminés au niveau du site actif de l’enzyme.

Il est décrit depuis 1990 un groupe de nouvelles BLSE dénommé CTX-M. La diffusion mondiale de ces enzymes a explosé de façon très rapide. Les plasmides portant ces gènes véhiculent également d’autres gènes de résistance (Aminosides, Fluoroquinolones). Les espèces les plus touchées sont : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *Proteus mirabilis* et sont retrouvées principalement en milieu communautaire. Comme pour les enzymes de Type TEM ou SHV, de nombreux variants sont décrits (CLAVE 2013).

4. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

Pour qu’une bactérie est dite résistante à un antibiotique. Elle doit exprimer plusieurs mécanismes de résistance agissant sur ces agents antimicrobiens. La Figure 6 représente les principaux mécanismes de résistance.



A : Inactivation enzymatique de l’antibiotique. B : diminution de la perméabilité et efflux actif. C : modification de la cible. D : Protection de la cible/séquestration de l’antibiotique.

Figure 6. Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (CALOP et al., 2012).

4.1 Inactivation enzymatique de l’antibiotique

Chez les bactéries normalement sensibles aux antibiotiques est principalement à la famille des bêtalactamines, il s’agit du mécanisme de résistance le plus important.

Les bêtalactamases sont des enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser les antibiotiques de la famille des bêtalactamines en ouvrant le cycle bêtalactame. Ce ci va conduire à la production de dérivés inactifs. Le support génétique des bêtalactamases peut être chromosomique ou plasmique (SECK 2005).

Cette résistance n'a cessé à évoluer aujourd'hui. *Klebsiella pneumoniae* a acquis une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques qui étaient considérés non loin comme des antibiotiques efficaces pour le traitement des infections dues aux germes multirésistants. Les principales classes des bêtalactamases sont représentées dans le Tableau 6.

Tableau 6. Classification et propriétés des bêtalactamases (POOLE 2004).

Classifi- cation d'ambler	Type d'enzyme	Substrats Préférés	Inhibé par :		Enzymes représentatives
			A.C	EDTA	
A	Pénicillinase	Pénicilline	+	-	pénicillinases de bactéries Gram positives
	Bêtalactamases a spectre restreint	Pénicilline, céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1.
	Bêtalactamases a spectre étendu	Pénicilline, céphalosporines à spectre étroit et large, monobactames	+	-	Nombreux SHV et TEM, CTX-M-1 à M-28, PER-1 et -2, VEB-1, GES-1, IBC-1, enzymes chromosomique des bactéries à G-
	Bêtalactamases résistants aux inhibiteurs	Pénicilline, céphalosporines	-	-	TEM-30 a -41, -44, -45, -51, -54
	Bêtalactamases a spectre étendu résistants aux inhibiteurs	Pénicilline, céphalosporines à spectre étroit et large	-	-	TEM-50, -68, -80.
	carbapenemase	Pénicilline, céphalosporines, carbapenemes, monobactames, parfois des β-lactamines à large spectre	+	-	NMC-A, SME-1 a -3, IMI-1, KPC-1 a -3, GES-2, SHV-38
B	carbapenemase	La majorité des bêtalactamines y compris carbapenemes, β-lactamines a large spectre et C4G	-	+	IMP-1 a -13, VIM-1 a -7, SPM-1, plusieurs enzymes chromosomique des bactéries à G-
C	céphalosporinases à spectre étendu	Pénicilline, céphalosporines à spectre étroit et large, cephamycine, monobactames	-	-	CMY-2 a-13, LAT-1, MOX-1 et -2, FOX-1 a -6, ACT-1, MIR-1, DHA-1 and -2, ACC-1, CFE-1, enzymes chromosomiques des bactéries à G-

D	Pénicillines à spectre étroit	Pénicilline, Cloxacilline	±	-	Nombreux variantes d'OXA
	Bêta-lactamases à spectre étendu	Pénicilline, Cloxacilline, β-lactamines à large Spectre, parfois monobactames ou C4G	±	-	plusieurs dérivés d'OXA-2 et -10, OXA-18, -29, -30, -31, -32, -45
	carbapenemase	Pénicilline, Oxacilline, carbapenemes	+	-	OXA-23 a -27, -40, -48, -54
A.C : Acide Clavulanique. EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique					

Les carbapenemes étaient efficace contre les bactéries multirésistantes mais leurs utilisation est menacée par l'émergence des entérobactéries résistantes aux carbapenemes dont *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce le plus rencontrés (HUDSON et al., 2014).

Durant ces dernières années, plusieurs études ont été menée concernant l'émergence de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries principalement *Klebsiella pneumoniae*. La résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux carbapénèmes a été observée dans certains pays en Europe. En USA, la résistance aux carbapénèmes a été observée dans des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapenemes comme KPC-2 et KPC-3 (HUSSEIN et al., 2013).

Les autres mécanismes de résistance varient en fonction de la famille d'antibiotiques. Le Tableau 7 représente les mécanismes de résistance par familles d'antibiotiques rencontrées chez les entérobactéries.

Tableau 7. Principaux mécanismes de résistance chez les Entérobactéries (CALOP et al., 2012).

Famille / genre bactérien	Antibiotique	Mécanisme de résistance
Entérobactéries	Bêta-lactamines	Production de bêta-lactamases.
	Aminosides	Acquisition d'enzymes ANT, APH ou AAC.
	Fluoroquinolones	Efflux actif. Mutations des topoisomérases II. Acquisition de déterminants qnr.

4.2 Diminution de la perméabilité

Les bactéries ont besoins des nutriments de leur environnement et excrètent les déchets extérieur dans leur environnement. Les pores utilisés par les bactéries pour cette transaction import-export sont souvent des pores procurant des entrées pour les

antibiotiques qui mènent vers ces cellules. Une des stratégies de résistance généralisée pour ces bactéries est la réduction de perméabilité membranaire qui exclue un grand nombre de ces antibiotiques. Ce système est particulièrement commun chez les bactéries à Gram négatif qui ont le potentiel de réguler l'importation des antibiotiques aux deux endroits (membrane externe et membrane interne) (PATRICK 2007).

4.3 Dissimulation de la cible d'antibiotique

Un mécanisme de résistance récemment découvert est l'occlusion temporaire de la cible d'antibiotique. Des médicaments comme la Ciprofloxacine s'attachent à l'ADN topoisomérases de la bactérie. Dans de rares cas chez *Mycobacterium tuberculosis*, la résistance à ces antibiotiques est due à la présence d'une autre protéine qui dissimule la cible qui est le site actif de l'ADN topoisomérases de la bactérie (PATRICK 2007).

5. Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* dans le monde

La multiresistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et en particulier chez *Klebsiella pneumoniae* est en perpétuelle évolution. Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux Céphalosporines de troisième génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE), récemment s'ajoute la résistance aux Fluoroquinolones. De nombreuses études relatent la progression continue à l'échelle mondiale de ces types de résistance. Alors que ce problème était essentiellement d'ordre hospitalier, la diffusion aujourd'hui à grande échelle dans le domaine communautaire de ce type de résistance laisse augurer un problème majeur de santé publique (BEN HAJ KHALIF et KHEDHER 2010).



Figure 7. Prévalence de *K. pneumoniae* productrice de (BLSE) par pays (EL HANI et al., 2011).

1- En Afrique

1.1. En Algérie

Depuis la première détection du *Klebsiella pneumoniae* reproductrice de carbapénémases type OXA-48 en Turquie. Plusieurs autres isolats productrices d'OXA-48 ont été reporté partout dans le monde principalement dans la région de méditerranée qui devenir un réservoir majeur de l'antibiorésistance. En Algérie la première détection d'une *Klebsiella* productrices des carbapenemase étaient en 2011a l'hôpital militaire de Constantine, c'était une souche isolée d'une hémoculture d'un patient male âgé de 18 mois. Malgré le traitement avec l'Imipenème l'état de ce malade a aggravé. Le test de susceptibilité réalisé par la méthode de diffusion sur gélose et l'E-test (CMI) a décelé la présence d'une *K. pneumoniae* résistante aux carbapenemes mais le traitement initial (Imipenème) été maintenue et le patient à décéder quelque jour après. La confirmation de la présence d'une OXA-48 était étudiée par PCR en utilisant une sequence spécifique du *bla*_{OXA-48} (AGGOUNE et al., 2014). Le Tableau 8 présente les concentrations minimales inhibitrices des β -lactamines testés sur *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 8. Concentrations minimales inhibitrices des β -lactamines testés sur *Klebsiella pneumoniae* (AGGOUNE et al., 2014).

Antibiotique	CMI ($\mu\text{g/ml}$)
Amoxicilline	>256
Amoxicilline + AC	>256
Ticarcilline	>256
Ticarcilline + AC	>256
Pipéracilline	>256
Pipéracilline + TAZ	>256
Cefalotine	>256
Céfoxitine	>256
Céfotaxime	4
Ceftazidime	1
Aztréonam	0.032
Céfépime	3
Imipenème	>32
Ertapénème	>32

AC : Acide Clavulanique. TAZ : Tazobactam. CMI : concentration minimale inhibitrice.

Dans la région d'Annaba, une étude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants réalisée par LABID (2015), a montré qu'il y a des taux de résistance très élevés pour les Céphalosporines : la Ticarcilline (95,83%), suivi

de la Céfazoline, la Pipéracilline et l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (87,5%), enfin, le Céfotaxime, la Ceftazidime, la Ceftriaxone, le Céfépime et l'Aztréonam (83,33%).

Pour les Aminosides, le taux le plus important a été observé pour la Gentamicine, (83,33%), suivi de l'Amikacine (79,16%). En ce qui concerne les Quinolones, les taux de résistance étaient les suivants: (41,66%) pour l'Acide Nalidixique et la Pefloxacin et (37,5%) pour L'Ofloxacin et la Ciprofloxacine. Nous notons également un taux de résistance important pour le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole avec (62,5%) et moyen pour la Fosfomycine (41,66%). En revanche une bonne activité du Céfoxitine et de la Colistine a été remarquée avec respectivement (91,66%) et (70,66%) de souches sensibles. Aucune résistance n'a été observée pour l'Imipénème avec (100%) de souches sensibles.

Au l'ouest de l'Algérie, SOUNA (2011) a réalisé une étude sur l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries y compris *Klebsiella pneumoniae* au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Cette étude révèle des taux de résistance très élevés pour l'Ampicilline (100%), l'Amoxicilline (100%), l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (90%), la Ticarcilline (100%), la Ticarcilline/Acide Clavulanique (93.3%), la Pipéracilline (90%), la Pipéracilline/Tazobactam (46.7%), la Cefalotine (83.3%), la Céfuroxime (83.3%), la Ceftriaxone (86.7%), le Céfotaxime (80%), la Ceftazidime (80%), l'Aztréonam (73.3%), le Céfépime (80%) et le Cefpirome (80%).

Pour les Aminosides, le taux le plus important a été observé pour la gentamicine (86.7%), suivi de la Tobramycine (83.3%) et de la kanamycine (65%). En ce qui concerne les Quinolones, les taux de résistance étaient les suivants: 66.7% pour l'Acide Nalidixique et 63.3% pour L'Ofloxacin et la Ciprofloxacine. Notons également un taux de résistance important pour le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole avec 83.3%.

En revanche une bonne activité du Latamoxef, du Céfoxitine et de l'Amikacine a été remarquée avec respectivement 96.7%, 90% et 86.7% de souches sensibles. Aucune résistance n'a été observée pour l'Imipénème et la Colistine avec 100% de souches sensibles.

1.2. En Tunisie

L'étude de BEN HAJ KHALIF et KHEDHER (2010), a fait le point sur la fréquence de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella* uropathogènes productrices de

β -lactamases a spectre élargi isolées chez les patients consultants et hospitalisés a l'hôpital universitaire de Mahdia. C'était étude rétrospective sur une période de douze mois. Elle a porté sur 3564 patients présentant une infection urinaire confirmée par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire de Mahdia.

La fréquence de la résistance aux autres antibiotiques des souches de *Klebsiella* productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) est représentée dans le Tableau 9.

Tableau 9. La fréquence de la résistance aux autres antibiotiques des souches de *Klebsiella* productrices et non productrices de β -lactamases à spectre étendu (BEN HAJ KHALIF et KHEDHER 2010).

Antibiotiques testés	<i>Klebsiella</i> (BLSE) n = 40	<i>Klebsiella</i> (NON BLSE) n = 158
Amoxicilline+ Acide Clavulanique	52,5 %	25,1 %
Céfotaxime	17,5 %	17 %
Imipénème	72,5 %	0 %
Gentamicine	92,5 %	15,6 %
Tobramycine	67,5 %	14,7 %
Amikacine	10%	1 %
Acide Nalidixique	80 %	44,2 %
Ofloxacine	90 %	16,7 %
Ciprofloxacine	67,5 %	15,2 %
Sulfaméthoxazole+Triméthoprim	0 %	36,3 %
Fosfomycine	100 %	24,6 %
Nitrofurane	100 %	27,4 %

1.3.Au Maroc

L'étude de TLAMÇANI et al. (2009) a fait le point sur la fréquence de la résistance aux fluoroquinolones des souches de *Klebsiella* spp. productrices de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) isolées des urines chez les patients consultants et hospitalisés à l'hôpital des spécialités de Rabat. C'était une étude rétrospective sur une période de trois années (2006-2008). *Klebsiella* est parmi les principales espèces bactériennes impliquées dans ce type d'infection. Les résultats de cette étude montrent que la fréquence de la résistance de *Klebsiella* spp. est de 50 % à l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique, de 35 % aux Céphalosporines de troisième génération et de 33 % aux Fluoroquinolones.

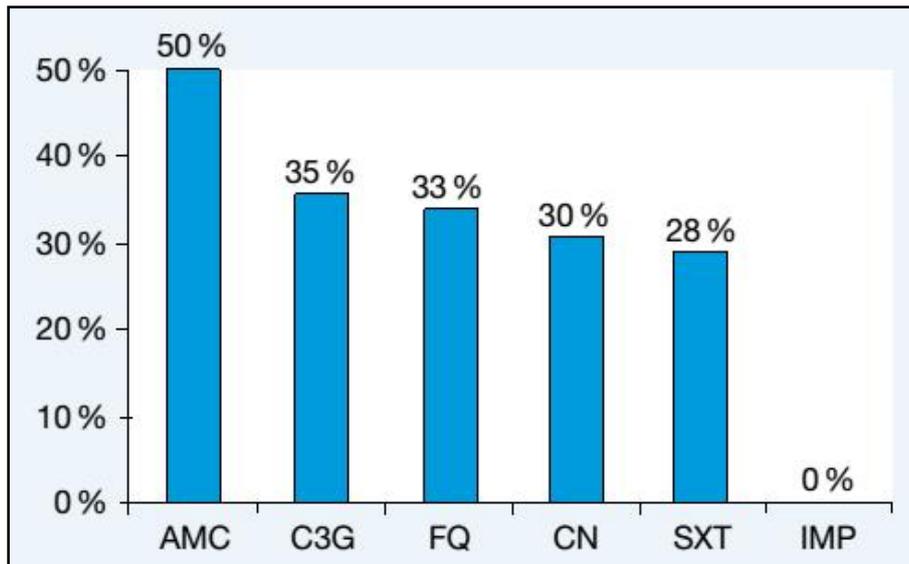


Figure 8. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux différents antibiotiques testés (TLAMÇANI et al., 2009).

AMC : Amoxicilline/Acide Clavulanique, C3G: Céphalosporines de troisième génération. FQ : Fluoroquinolones, CN : Gentamicine, SXT : Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, IMP : Imipénème.

Généralement, l’Afrique est certainement une des parties du monde où les BLSE ont été décrites depuis le début de l’apparition de cette résistance. La première BLSE décrite en Afrique a été isolée en 1984 en Tunisie. Parmi les pays d’Afrique du Nord, l’Égypte semble avoir la prévalence de *K. pneumoniae* BLSE la plus élevée. L’incidence des BLSE parmi les souches de *K. pneumoniae* en Égypte varient entre 58 et 67 %. *K. pneumoniae* semble être l’espèce prédominante en Tunisie avec une prévalence variant de 10 à 32,4 % pouvant atteindre 87,5 % dans les Unités de Soins Intensifs pédiatriques. La prévalence des souches de *K. pneumoniae* BLSE est de 19,9 % en Algérie (EL HANI et al., 2011).

2. En Asie

2.1.En Chine

Les septicémies néonatales sont responsables d’un quart jusqu’à un demi des morts néonatales. L’émergence et la propagation des souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux Carbapénèmes a créé une crise globale de santé publique. Les germes isolés de ces septicémies sont généralement résistants à plusieurs antibiotiques spécialement les Carbapénèmes (LIU et al., 2013). Le Tableau 10 résume les principaux caractères des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées.

Tableau 10. Caractéristiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées des septicémies néonatales (LIU et al., 2013).

<i>Klebsiella pneumoniae</i> isolée	Imipenème		Résistance aux antibiotiques
	Zone de diffusion (mm)	CMI (mg/L)	
Kp122	16	32	CAZ, CTX, AZT, FEP, CIP, LEV, IMP, SXT, GEN
ETKp122	17	16	CTX, AZT, IMP, SXT, GEN
Kp125	6	128	CAZ, CTX, AZT, CIP, LEV, IMP, SXT, AMK, TOB, GEN
ETKp125	15	32	CAZ, CTX, AZT, CIP, LEV, IMP, SXT, GEN
Kp131	10	64	CAZ, CTX, AZT, FEP, CIP, IMP, SXT, AMK, TOB, GEN
ETKp131	16	16	CTX, AZT, CIP, IMP, AMK, TOB, GEN
Kp142	17	32	CAZ, CTX, AZT, CIP, LEV, IMP, SXT, AMK, TOB, GEN

CMI = Concentration Minimal Inhibitrice. CAZ = Cefotaxime; IMP = Imipenème; AZT = Aztréonam; AMK = Amikacine; GEN = Gentamicine; TOB = Tobramycine; SXT = sulfaméthoxazole; FEP = Céfépime; CTX = Céfotaxime ; LEV = Lévofloxacine ; CIP = Ciprofloxacine.

2.2.En INDE

Pour confirmer la résistance aux antibiotiques, SHAHID et al. (2008) ont réalisé le test de susceptibilité des antibiotiques sur gélose Muller-Hinton en utilisant des disques d'antibiotiques commercialisés : Cotrimoxazole, Tétracycline, Amikacine, Gentamicine, Tobramycine, Ciprofloxacine, Céfotaxime, Ceftriaxone. Nitrofurantoines, Norfloxacine. Les résultats sont interprétés selon les instructions de NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Le Tableau 11 présente les pourcentages de susceptibilité des antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines et pus.

Tableau 11. Pourcentages de susceptibilité des antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines et pus en Inde (SHAHID et al., 2008).

Antibiotique	<i>Klebsiella pneumoniae</i> des urines	<i>Klebsiella pneumoniae</i> de pus
Cotrimoxazole	4,5 (1)	0 (0)
Tétracycline	9,1 (2)	12.8 (5)
Ciprofloxacine	31,8 (7)	28.2 (11)
Gentamicine	45,5 (10)	30.8 (12)
Amikacine	54,5 (12)	35.9 (14)
Tobramycine	63,6 (14)	46.2 (18)
Céfotaxime	31,8 (7)	7.7 (3)
Ceftriaxone	13,6 (3)	7.7 (3)
Nitrofurantoines	9,1 (2)	NT
Norfloxacine	31,8 (7)	NT

NT : non testé.

2.3.En Arabie Saoudite

Peu de données sur la prévalence de résistances aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* existent. Ainsi, JAFFAR et al. (2007) ont évalué la prévalence et la tendance de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* aux hôpitaux Saoudiens en une période de 6 ans. Le nombre total des bactéries isolées et analysé est de 3070. Un nombre de 2103 (68,5%) des prélèvements étaient externes tandis que 967 (31,5%) étaient des prélèvements internes, 77,5% des isolats externes et 32% des isolats internes ont été obtenus à partir d'urines, et 2,8% des isolats externes et 11,4% des isolats internes ont été obtenus à partir des hémocultures. Les taux de résistances des isolats nosocomiaux ont été beaucoup plus élevés que ceux des isolats externes. Le Tableau 12 représente les taux de résistance de *K. pneumoniae* isolées des prélèvements externes de 1998 à 2003 et le Tableau 13 représente les taux de résistance de *K. pneumoniae* obtenues des isolats nosocomiaux. Une comparaison entre les taux de résistances entre les isolats externes et nosocomiales est représentée dans le Tableau 14.

Tableau 12. Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* des isolats externes (1998-2003) (JAFFAR et al., 2007).

	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Céfazoline	6.7% (32/478)	5.8% (24/416)	4.3% (16/374)	3.3% (11/333)	4.0% (13/321)	4.1% (7/171)
Cefoxitin	2.3% (9/386)	1.4% (4/280)	1.7% (5/299)	0.4% (1/261)	1.2% (3/252)	2.3% (3/130)
Céfuroxime	1% (1/94)	3% (6/206)	3% (9/299)	0.8% (2/260)	1.6% (4/248)	3% (4/132)
Ceftriaxone	0.8% (4/475)	0.3% (1/319)	9.1% (9/99)	0.6% (2/326)	0.9% (3/321)	2.3% (4/173)
Amikacine	0% (0/38)	0% (0/28)	1.3% (1/77)	0% (0/74)	0% (0/67)	2.3% (1/44)
Ciprofloxacine	5.3% (5/95)	3.9% (9/232)	3.7% (14/376)	2.4% (8/332)	5.6% (18/320)	8.2% (14/171)
TMP-SMX	10% (48/479)	12% (51/414)	9.6% (36/376)	8.7% (27/312)	14% (35/252)	13.7% (18/131)

TMP-SMX : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (BACTRIM).

Tableau 13. Résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* des isolats nosocomiaux (1998-2003) (JAFFAR et al., 2007).

	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Céfazoline	9.7% (15/155)	8.7% (13/150)	11.5% (12/104)	9.5% (13/137)	12% (16/134)	20% (10/50)
Cefoxitin	3.7% (3/80)	8.5% (4/47)	3.8% (2/53)	6.8% (4/59)	4.8% (2/42)	11.8% (2/17)
Céfuroxime	4% (3/76)	3.2% (3/93)	10.5% (6/57)	20% (12/59)	7% (3/42)	11.8% (2/17)
Ceftriaxone	1.3% (2/155)	4.5% (6/132)	9% (5/54)	4.5% (6/134)	7.5% (10/133)	15.7% (8/51)
Amikacine	NT	0% (0/29)	10% (5/49)	2.5% (2/81)	3.3% (3/92)	6% (2/34)
Ciprofloxacine	4% (6/154)	4.6% (7/151)	6.7% (7/105)	5% (7/137)	8% (11/134)	12% (6/50)
Gentamicine	2.6% (2/77)	6.5% (8/123)	11.6% (12/103)	8% (11/136)	11.3% (15/133)	23% (12/52)
TMP-SMX	13% (20/155)	13% (20/152)	20.7% (22/106)	14.3% (19/133)	16% (7/43)	29% (5/17)

TMP-SMX : Triméthoprime-sulfaméthoxazole (BACTRIM). NT : non testé.

Le Tableau 14. Comparaison entre les taux de résistances entre les isolats externes et nosocomiaux (JAFFAR et al., 2007).

Antibiotique	Résistance dans les isolats externes (%)	Résistance dans les isolats internes (%)
Ticarilline	96.6% (1269/1313)	96.5% (332/344)
Céfazoline	5% (103/2093)	10.8% (79/730)
Cefoxitin	1.5% (25/1608)	5.7% (17/298)
Céfuroxime	2% (26/1239)	8.4% (29/344)
Ceftriaxone	1% (17/1713)	5.6% (37/659)
Ceftazidime	2.7% (6/219)	13.8% (24/174)
Imipénème	0% (0/204)	0% (0/218)
Amikacine	2% (2/93)	4.2% (12/285)
Gentamicine	2% (45/2098)	6% (44/731)
Tobramycine	3% (23/780)	8.5% (24/282)
Ciprofloxacine	4.4% (68/1526)	9.6% (60/624)
TMP-SMX	11% (216/1964)	15.8% (93/586)

TMP-SMX : Triméthoprime-sulfaméthoxazole (BACTRIM).

2.4. Au Liban

La résistance aux carbapénèmes peut être le résultat d'un certain nombre des mécanismes y compris la production des carbapénémase tels que KPC-A, les bêta-lactamases VIP, IMP ou NDM-1. BAROUD et al. (2013) ont observé une augmentation de *Klebsiella pneumoniae* productrice des BLSE à l'Université Américaine du Centre Médical de BEYROUTH.

Afin de détecter la prévalence de résistance aux antibiotiques principalement aux carbapénèmes, la susceptibilité aux antibiotiques est réalisée par deux méthodes. La première est par diffusion sur gélose des disques d'antibiotiques choisis (résultats par diamètre de zones d'inhibition) et la deuxième par la méthode E-test (résultats par CMI). Les résultats de ces deux méthodes sont résumés dans le Tableau 15 et le Tableau 16.

Tableau 15. Profils de susceptibilité aux antimicrobiens de *Klebsiella pneumoniae* déterminés par E-test (BAROUD et al., 2013).

	Numéro d'isolat										
	K03	K09	K10	K31	K33	K38	K40	K45	K54	K55	K56
Ertapénème (CMI)	>32	>32	>32	16	3	2	24	16	>32	8	32
Imipénème(CMI)	16	12	>32	1,5	0,38	1,5	0,75	1	32	0,5	32
Méropénème(CMI)	8	2	8	0,5	0,38	0,5	1,5	2	16	0,75	16

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Tableau 16. Profils de susceptibilité aux antimicrobiens de *Klebsiella pneumoniae* déterminés par diffusion sur gélose (BAROUD et al., 2013).

	Numéro d'isolat										
	K03	K09	K10	K31	K33	K38	K40	K45	K54	K55	K56
Ertapénème	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Imipénème	R	R	R	S	S	I	I	I	R	S	R
Méropénème	R	R	R	I	I	I	R	R	R	R	R
Aztréonam	R	I	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Céfotaxime	R	R	R	R	R	R	R	N.D	R	R	R
Ceftazidime	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Céfépime	R	S	R	R	R	I	R	R	R	S	R
Cefpodoxime	R	R	R	R	R	R	R	N.D	R	R	R
Ciprofloxacine	S	R	S	R	I	I	R	I	R	R	R
SXT	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I

R: Résistant. S: Susceptible. I: Intermédiaire. SXT: Triméthoprime/Sulfaméthoxazole. N.D: Non Déterminé.

Généralement en Asie, la dissémination de cette bactérie multi résistante en communauté est particulièrement inquiétante dans certains pays d'Asie comme l'Inde où la prévalence des BLSE au sein de souches de *K. pneumoniae* était de l'ordre de 36,4 % en 2008 selon le programme de surveillance SMART. Cette prévalence était aussi élevée aux Philippines (27,3 %) et en Chine (13,6 %). Elle était moins de 10 % à Singapour (8,3 %), en Nouvelle-Zélande (7,7 %), à Hong Kong (6,3 %) et à Taiwan (4,1 %) (EL HANI et al., 2011).

3. En Europe

Klebsiella pneumoniae est une cause fréquente des infections des voies urinaires, des voies respiratoires et aussi de l'infection de système circulatoire. Elle peut propager rapidement entre les patients dans les milieux hospitaliers.

La résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae* est en évolution perpétuelle. Plus d'un tiers des isolats de *Klebsiella pneumoniae* étaient résistantes à au moins un groupe d'antibiotiques sous surveillance et une résistance à plusieurs groupes d'antibiotiques était commune.

Les pourcentages moyens de *K. pneumoniae* résistantes aux Fluoroquinolones, les Céphalosporines de troisième génération, les Aminosides, et une résistance combinée à tous les trois de ces groupes d'antibiotiques, ont augmenté de manière significative entre 2011 et 2014. La tendance à la hausse de la résistance combinée aux Fluoroquinolones, Céphalosporines de troisième génération et Aminoglycosides de 16,7% en 2011 à 19,6% en 2014 (Figure 9) signifie que pour les patients qui sont infectés par ces bactéries multirésistantes ont que peu d'options thérapeutiques restent disponible. Parmi ceux-ci sont les carbapenemes, un groupe de dernière ligne d'antibiotiques. Bien que les pourcentages résistance aux carbapenemes sont restés à des niveaux bas pour la plupart des pays en 2014 (Figure 10) (ANONYME 5, 2015).

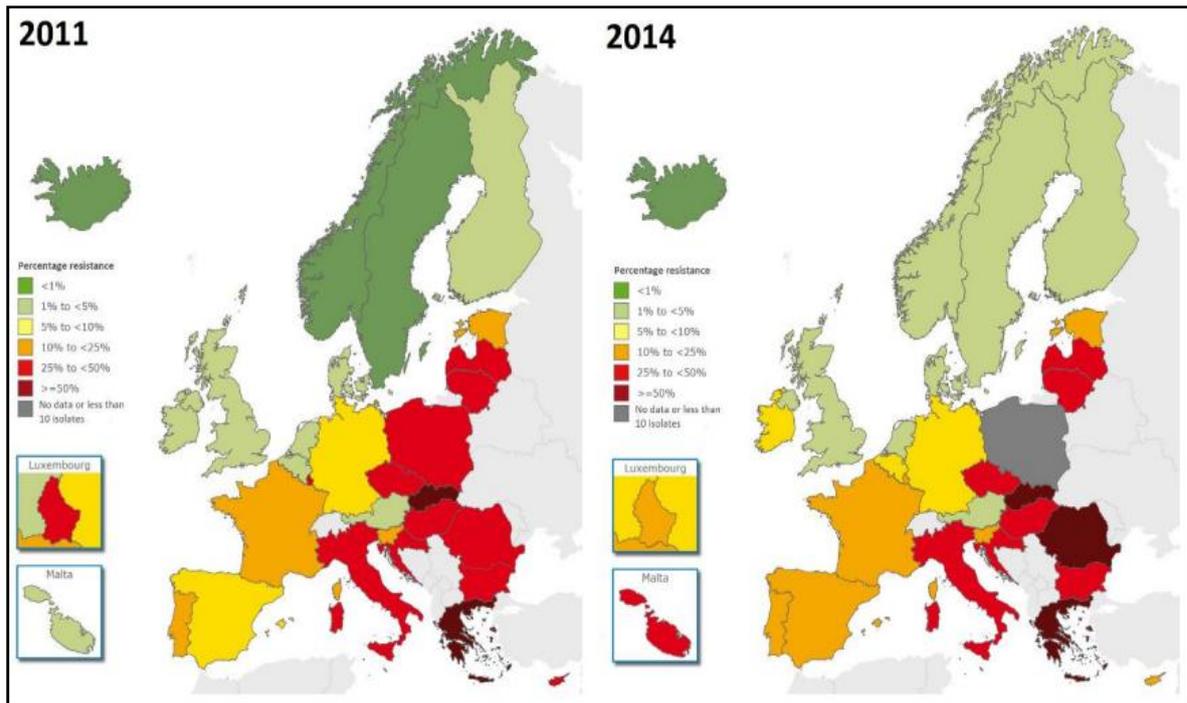


Figure 9. Pourcentage d'isolats de *K. pneumoniae* avec résistance combinée aux céphalosporines de troisième génération, les fluoroquinolones et les aminosides en 2011 et 2014 (ANONYME 5, 2015).

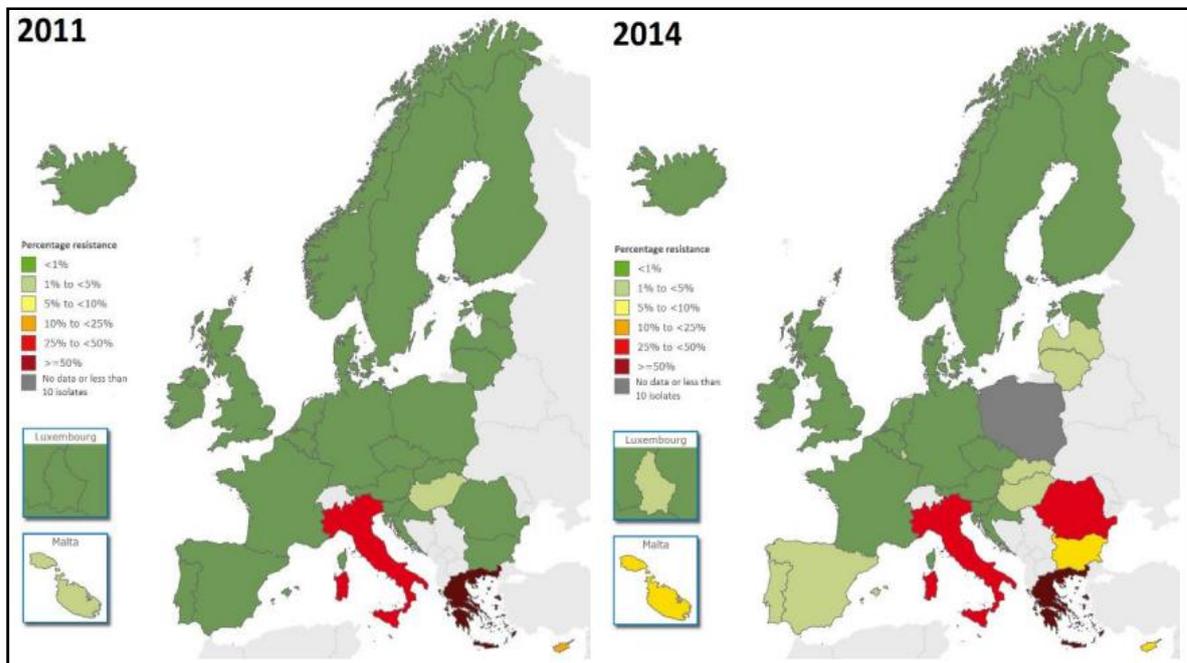


Figure 10. Pourcentage d'isolats de *K. pneumoniae* avec résistance combinée aux carbapenemes en 2011 et 2014 (ANONYME 5, 2015).

4. En Amérique de nord et Amérique de sud

4.1. Aux états unis d'Amérique USA

Une étude concernant *Klebsiella pneumoniae* productrice des bêtalactamases de type CTX-M est réalisée par WANG et al. (2013), elle a démontré l'émergence récente de *Klebsiella pneumoniae* multirésistantes et productrice des bêtalactamases type CTX-M isolée des patients hospitalisés aux U.S.A.

Les résultats de susceptibilité aux antibiotiques sont représentés dans le Tableau 17.

Tableau 17. Susceptibilité aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêtalactamases (CTX-M) à New York de 2005 à 2012 (WANG et al., 2013).

Antibiotique	N° d'isolats	Pourcentage de susceptibilité	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Intervalle de CMI
Cefoxitin	25	16 (64.0)	≤8	>16	≤8→16
Céfotaxime*	22	0	>256	>256	16→256
Ceftazidime*	22	2 (9.1)	16	128	4→256
Pip/Taz	25	9 (36.0)	64	>64	≤16→≥64
Ertapénème	25	23 (92.0)	≤2	≤2	≤2→4
Méropénème*	22	21 (95.5)	0.094	0.125	0.047–2.0
Imipénème*	22	20 (90.1)	0.25	1.5	0.19–6.0
Ciprofloxacine	25	3 (12.0)	>2	>2	≤1 →2
Amikacine	25	18 (72.0)	≤16	>32	≤16→>32
Gentamicine	25	8 (32.0)	>8	>8	≤4→8
Tétracycline	25	5 (20.0)	>8	>8	≤4→8
TMP/SMX	25	1 (4.0)	>2/38	>/38	<2/38→2/38
Tigécycline*	22	19 (86.4)	>2/38	3	0.75– 8
Colistine	22	21 (95.5)	0.25	0.38	0.19–64

* : CMI est déterminée par E-test et pour les autres par système de micro scan. CMI₅₀ : 50% de concentration minimale inhibitrice. CMI₉₀ : 90% de concentration minimale inhibitrice. Pip/Taz : Pipéracilline-Tazobactam. TMP/SMX : Triméthoprim-sulfaméthoxazole (BACTRIM).

4.2. Au Brésil

La prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux céphalosporines et aux carbapénèmes est en hausse. CABRAL et al. (2012), ont réalisé une étude concernant les gènes de résistance y compris *Bla*_{KPC} and *Bla*_{CTX-M-2}. Le Tableau 18 résume les profils de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* et l'origine de prélèvement.

Tableau 18. Origine et profils de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* (CABRAL et al., 2012).

Isolat	Origine	Profil de résistance aux antibiotiques
K1A	cathéter	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN, PIT, TSU, NAL, CLO*
K2A	Urine	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN*, PIT, TSU, NAL, EST*, TET
K3A	Plaie	AMO, AMP, AMC, CTX*, TSU, NAL*, TET
K4A	Asp. Trach	AMO, AMP, AMC, CTX*, NAL, TET
K5A	Urine	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, GEN, PIT*, TSU, CLO, TET
K6A	Urine	AMO, AMP, AMC, ATM*, CIP, GEN*, NAL, CLO, TET
K7A	Asp. Trach	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN*, PIT*, TSU, NAL, EST*, TET
K9A	Asp. Trach	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, PIT*, TSU, CLO
K10A	Urine	AMO, AMP, AMC, ATM, CPM, CTX, CFO*, CAZ, CIP, PIT, TSU, AMI*, NAL, CLO, TET
K12A	Urine	AMO, AMP, AMC, CMP, CFO, CIP, MPM, PIT, TSU, AMI
K1P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, TET
K3P	Fragment d'os	AMO, AMP, AMC*, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, PIT, TSU
K5P	Sang	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, CLO, TET
K8P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K9P	Sécrétion abcès	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, PIT, TSU, NAL, CLO, EST*, TET
K10P	Sécrétion abcès	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*
K12P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K13P	Asp. trachéale	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO*, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, TET*
K14P	Sang	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, PIT, TSU, NAL, CLO, EST, TET
K15P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, TET*
K16P	Cathéter	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, TET*
K19P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO*, CAZ, CFL, CIP, PIT, TSU, NAL, CLO*, EST, TET
K20P	Urine	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, EST*, TET
K22P	Asp. Trach	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, EST*, TET*

K: *Klebsiella pneumoniae*, **A:** Hôpital Publique, **P:** Hôpital Privé, **Asp. Trach:** Aspiration Trachéale, **AMO:** Amoxicilline, **AMP:** Ampicilline, **AMC:** Amoxicilline/Acide Clavulanique, **ATM:** Aztréonam, **CPM:** Céfépime, **CTX:** Céfotaxime, **CAZ:** Ceftazidime, **CIP:** Ciprofloxacine, **GEN:** Gentamicine, **PIT:** Pipéracilline/Tazobactam, **TSU:** Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, **NAL:** Acide Nalidixique, **CLO:** Chloramphénicol, **EST:** Streptomycine, **TET:** Tétracycline, **CFO:** Cefoxitin, **APS:** Ampicilline/Sulbactame, **IMP:** Imipénème, **MPM:** Méropénème, **CFL:** Cefalotine, **AMI:** Amikacine, * Résistance Intermédiaire.

Chapitre 3 : Profils de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un germe opportuniste et pathogène responsable de plusieurs infections nosocomiales y compris des septicémies, infections de tractus uro-génital et des pneumopathies essentiellement chez les patients immunodéprimés. Ces infections nosocomiales sont causées beaucoup plus par des souches de *Klebsiella pneumoniae* multirésistantes principalement productrices des BLSE. La majorité de ces enzymes sont dérivées à partir du groupe TEM ou SHV. Depuis l'année 2008 le CTX-M (Céfotaximase) devient dominant dans plusieurs pays et principalement dans les souches de *Klebsiella pneumoniae* hospitalières (CABRAL et al., 2012).

Un profil de résistance est un ensemble d'antibiotiques permettant au mieux, avec le plus de précision possible de préjuger des mécanismes de résistance dont dispose une bactérie donnée et notamment, mais pas exclusivement de son équipement enzymatique (SECK 2005).

1. Exemples d'études des profils de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*

1.1. En Espagne

Une étude rétrospective sur la résistance aux antibiotiques réalisée dans l'hôpital Verge de la Cinta en Espagne en 2005, a révélé un grand taux de susceptibilité des souches de *Klebsiella pneumoniae* à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC). Le but de cette étude était de suivre l'évolution des isolats de *Klebsiella pneumoniae* exprimant des caractères de résistances à la famille des bêtalactamines et d'investiguer leurs épidémiologie moléculaire et leurs mécanismes de résistances aux antibiotiques (PÉREZ-MORENO et al., 2011).

Le Tableau 19 représente les profils de résistance aux antibiotiques de 7 isolats de *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 19. Profils de résistance aux antibiotiques de 7 isolats de *Klebsiella pneumoniae* (PÉREZ-MORENO et al., 2011).

N° d'isolat	Profil de résistance (phénotype de résistance)
01	AM, AMC, NAL, FOS
02	AM, AMC, FOS, C
03	AM, AMC, NAL, CIP, NF, C, K, FOS, SXT, T, ST/SP, SUL
04	AM, AMC, NAL, CIP, TOB, K, NF, C, SUL, CRX, FOS, SXT, T, ST

05	AM, AMC, NAL, CIP, TOB, K, NF, C, SUL, ST/SP
06	AM, AMC, CIP, TOB, K, NAL, NF, C
07	AM, AMC, NAL, CIP, TOB, K, AK, NF, C, FOS

AM : amoxicilline. AMC : amoxicilline/ acide clavulanique. NAL : acide nalidixique. FOS : Fosfomycine. C : chloramphénicol. CIP : Ciprofloxacine. NF : Nitrofurantoines. K : kanamycine. T : Tétracycline. ST : streptomycine. SP, Spectinomycine. Sul : Sulfonamides. TOB : Tobramycine. CRX : Céfuroxime. AK : Amikacine. SXT : sulfaméthoxazole/Triméthoprime.

1.2. Au Brésil

Au Brésil CABRAL et al., (2012) ont réalisé une étude sur 24 isolats clinique de *Klebsiella pneumoniae* dans la ville de Recife au Brésil, 10 isolats provenaient des hôpitaux publics et 14 isolats des hôpitaux privés à partir de l'année 2007 jusqu'à 2008. L'identification de ces isolats était par Vitek2. Le Tableau 20 représente les profils de résistance aux antibiotiques des 24 souches analysés.

Tableau 20. Profils de résistance aux antibiotiques de 24 isolats de *Klebsiella pneumoniae* (CABRAL et al., 2012).

isolat	Profil de résistance aux antibiotiques
K1A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN, PIT, TSU, NAL, CLO*
K2A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN*, PIT, TSU, NAL, EST*, TET
K3A	AMO, AMP, AMC, CTX*, TSU, NAL*, TET
K4A	AMO, AMP, AMC, CTX*, NAL, TET
K5A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, GEN, PIT*, TSU, CLO, TET
K6A	AMO, AMP, AMC, ATM*, CIP, GEN*, NAL, CLO, TET
K7A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, CIP, GEN*, PIT*, TSU, NAL, EST*, TET
K9A	AMO, AMP, AMC, ATM, CMP, CTX, CAZ, PIT*, TSU, CLO
K10A	AMO, AMP, AMC, ATM, CPM, CTX, CFO*, CAZ, CIP, PIT, TSU, AMI*, NAL, CLO, TET
K12A	AMO, AMP, AMC, CMP, CFO, CIP, MPM, PIT, TSU, AMI
K1P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, TET
K3P	AMO, AMP, AMC*, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, PIT, TSU
K5P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, CLO, TET
K8P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K9P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, PIT, TSU, NAL, CLO, EST*, TET
K10P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*
K12P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, AMI, NAL, CLO, TET*
K13P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO*, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, TET*
K14P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, PIT, TSU, NAL, CLO, EST,

	TET
K15P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, TET*
K16P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, TET*
K19P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO*, CAZ, CFL, CIP, PIT, TSU, NAL, CLO*, EST, TET
K20P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CFO, CAZ, CFL, CIP, GEN, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO, EST*, TET
K22P	AMO, AMP, AMC, APS, ATM, CMP, CTX, CAZ, CFL, CIP, IMP, MPM, PIT, TSU, NAL, CLO*, EST*, TET*

K: *Klebsiella pneumoniae*, **A:** hôpital public, **P:** hôpital privé, **AMO:** amoxicilline, **AMP:** ampicilline, **MPM:** Méropénème, **AMC:** amoxicilline-acide clavulanique, **ATM:** Aztréonam, **CPM:** Céfépime, **CTX:** Céfotaxime, **CIP:** Ciproflxacine, **GEN:** gentamicine, **PIT:** Pipéracilline/Tazobactam, **TSU:** Triméthoprim/sulfaméthoxazole, **NAL:** acide nalidixique, **CLO:** chloramphénicol, **EST:** streptomycine, **TET:** tétracycline, **CFO:** cefoxitin, **IMP:** imipénème, **AMI:** Amikacine, **APS:** ampicilline/sulbactame, **CAZ:** Ceftazidime, **CFL:** Cefalotine, * résistance intermédiaire.

1.3.En Algérie

L'étude réalisée par El FERTAS-AISSANI et al. (2013) sur les profils de virulence et de sensibilité aux antibiotiques de souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de divers prélèvements cliniques a montré que 14 isolats appartenant aux profils de virulence VP1, VP2, VP3 et VP7 ont un phénotype de résistance primitif médiée par un bas niveau de susceptibilité à l'Amoxicilline et à la Ticarcilline. Cependant, les tests sur les autres 40 isolats montrent que 29 isolats (53,7 %) étaient résistants aux Céphalosporines de 3ème génération et/ou Aztréonam et Aminoglycosides. Le Tableau 21 résume les profils de résistance de 54 isolats de *Klebsiella pneumoniae* regroupés selon les profils de virulence.

Tableau 21. Profils de résistance de 54 isolats de *Klebsiella pneumoniae* (El FERTAS-AISSANI et al., 2013).

Profil de virulence	Profil de résistance
VP 1 (n= 19)	AMX-TIC (5)
	AMX-TIC-MZ-MEC, GM-TM-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM, GM-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM, GM-K-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, SSS-TE (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CRO, GM-K-TM-AN-SSS-TE (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1)
	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-ATM, GM-K-TM-AN-SSS-C (1)
	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM-CTX-CRO-ATM,
	GM-K-TM-AN-SSS (1)

Partie I : synthèse bibliographique

	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM-CTX-CRO-ATM, GM-K-SSS-TE (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-CAZ-ATM, GM-K-TM-AN-SSS (2)
VP2 (n = 18)	AMX-TIC (3) AMX-TIC-MZ-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (2) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-SSS-TE (1) AMX-TIC-MEC-CF-CXM-CTX, GM-K-TM-AN-SSS-TE (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CRO-ATM, GM-K-TM-AN-SSS-TE (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-CAZ, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-ATM, GM-K-TM-AN-SSS (2) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS-TE (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-CAZ-ATM, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS-C-TE (1) AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM-CTX-CRO-ATM, GM-K-TM-AN-SSS-TE-C (1)
VP3 (n = 5)	AMX-TIC (5)
VP4 (n = 3)	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-CAZ, GM-K-TM-AN-SSS (1) AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO-ATM, GM-K-TM-AN-SSS- (1)
VP5 (n = 1)	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-ATM, GM-K-TM-AN-SSS (1)
VP6 (n = 1)	AMX-TIC-TCC-MZ-CF-CXM-CTX-ATM, GM-K-TM-AN-SSS-C (1)
VP7 (n = 1)	AMX-TIC (1)
VP8 (n = 1)	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1)
VP9 (n = 1)	AMX-TIC-MZ-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (1)
VP10 (n = 1)	AMX-TIC-MZ-MEC-CF-CXM, GM-K-TM-AN-SSS (1)
VP11 (n = 1)	AMX-AMC-TIC-TCC-CF-CXM-CTX, GM-K-TM-AN-SSS (1)
VP12 (n = 1)	AMX-TIC-TCC-MZ-MEC-CF-CXM-CTX, GM-K-TM-AN-SSS-TE (1)
VP13 (n = 1)	AMX-TIC-MZ-CF-CXM-CTX-CRO, GM-K-TM-AN-SSS (1)

n: numéros d'isolats, **AMX**: amoxicilline, **TIC**: Ticarcilline, **MZ**: Mezlocilline, **MEC**: Mecilliname, **CF**: Cefalotine, **CXM**: Céfuroxime, **CTX**: Céfotaxime, **CRO**: Ceftriaxone, **CAZ**: Ceftazidime, **ATM**: Aztréonam, **GM**: gentamicine, **K**: kanamycine, **TM**: Tobramycine, **AN**: Amikacine, **SSS**: Sulfonamides, **TE**: tétracycline, **C**: chloramphénicol.

Chapitre 4 : Base génétique de la résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae*

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. Au fur et à mesure de la découverte de nouveaux antibiotiques, les bactéries ont progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes conduisant à la multirésistance (ARSALANE et al., 2010). C'est un caractère phénotypique qui peut être naturel ou acquis. La résistance naturelle concerne toutes les souches d'une espèce bactérienne. Elle détermine un phénotype sauvage. Sur le plan moléculaire, les gènes de résistance naturelle sont d'origine chromosomique. La résistance chromosomique est un caractère permanent transmissible aux cellules filles lors de la répllication bactérienne. La résistance acquise ne concerne qu'une partie des souches d'une espèce bactérienne. L'acquisition d'un nouveau mécanisme de résistance résulte soit d'une mutation dans un gène chromosomique soit de l'acquisition d'un gène extrachromosomique porté par un plasmide conjugatif ou par un bactériophage (MAMMERI 2007).

1. Origine des gènes de résistance aux antibiotiques

Il existe de nombreuses origines possibles pour les différents gènes de résistance aux antibiotiques. Certains gènes de résistance sont simplement des versions mutés des gènes normaux qui conservent leur fonction d'origine, mais ne sont plus affectés par les antibiotiques. Un exemple serait des protéines dans des bactéries qui sont impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire. Dans certains cas, les mutations dans ces gènes permettent de produire des protéines qui aident encore dans la synthèse de la paroi cellulaire empêchent encore les antibiotiques de leur inactiver. Dans certaines bactéries, une mutation dans l'un de ces gènes peut conduire à une résistance de haut niveau pour la Pénicilline et des médicaments apparentés. Dans d'autres bactéries (comme *Streptococcus pneumoniae*), les mutations se sont produites dans cinq protéines différentes avant que la résistance à la Pénicilline de haut niveau développé (GUILFOILE 2007).

Une autre origine probable de certains gènes de résistance aux antibiotiques est des mutations dans les gènes qui ont produit une protéine à l'origine impliqué dans le métabolisme normal. Les mutations dans ces gènes ont conduit à la production de protéines qui provoquent la résistance aux antibiotiques. Un exemple serait des enzymes de synthèse de la paroi cellulaire sont devenus adaptés pour attaquer les antibiotiques.

Une théorie controversée suggère qu'une origine possible de certains gènes de résistance aux antibiotiques est les bactéries et les champignons qui produisent les antibiotiques. Les producteurs d'antibiotiques doivent être antibiotiques résistants pour survivre. De nombreuses bactéries sont capables d'échanger l'information génétique, et il est possible que cela se produise avec les producteurs d'antibiotiques, par inadvertance, le transfert de gènes de résistance d'autres bactéries (GUILFOILE 2007).

2. Mécanismes génétiques de résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae*

2.1. Résistance chromosomique:

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, du au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique).

C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible ; elle est permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (LOZNIEWSKI et RABAUD 2010).

2.2. Résistance extrachromosomique

Les bacilles à Gram négatif, en particulier les entérobactéries, sont particulièrement efficaces pour échanger de l'information génétique et, la résistance aux antibiotiques de ces espèces est souvent due à l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes ont été capturés à partir du chromosome d'espèces différentes. Ces mobilisations impliquent deux types différents d'éléments génétiques mobiles. Ceux qui sont capables de transférer ou de capter des gènes entre les molécules d'ADN tels que les séquences d'insertion, les transposons, ou les cassettes des intégrons, et, ceux qui permettent de transfert d'ADN entre cellules, tels que les plasmides conjugatifs et mobilisables ou les éléments intégratifs conjugatifs (EIC) (KASSIS-CHIKHANI 2012).

Cette résistance concerne 90% de résistance acquise, la résistance acquise souvent médiée par un élément génétique transposable (plasmide, transposon) a la faculté de se transmettre horizontalement parfois entre espèces différentes, entraînant par exemple une épidémie de plasmide. La transmission verticale existe aussi (SEKHRI 2011). Elle peut concerner plusieurs antibiotiques lorsque les gènes correspondants sont situés sur le même plasmide ou le même transposon.

2.2.1. Les plasmides

Les plasmides bactériens revêtent une importance toute particulière dans l'étude des phénomènes de résistance car ils constituent à la fois un vecteur de premier plan pour la dissémination des résistances et un immense réservoir génétique (LABID 2015).

Les plasmides sont des agents essentiels pour le flux horizontal de gènes et donc une composante importante de l'évolution bactérienne. Ce sont des ADN circulaires extrachromosomiques capables d'autoréplication (réplicon) et parfois de transfert. Ils possèdent une origine de réplication (*Ori*) qui les divise en classes d'incompatibilité (groupe Inc) : en principe 2 plasmides du même groupe Inc ne peuvent pas se répliquer et se ségréguer correctement dans les cellules filles.

La résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique SEKHRI (2011).

- En chine, YING et al. (2015) ont détecté la présence d'un plasmide dit pKF3-94 (Figure 11) ; s'était un plasmide circulaire de 94,219 pb avec un moyen de teneur en CG égal à 51,6%. Ils identifient 144 montures ouvertes de lecture (ORFs) dont la majorité (119/144) transcrits à partir le brin principal ou prépondérant. 69 d'ORFs étaient prévues de coder des protéines de fonctions connues. Y compris la conjugaison, la résistance aux antibiotiques (*aacC4* confère une résistance aux Aminoglycosides, *qnrS* confère une résistance aux Fluoroquinolones, *bla_{CTX-M-15}* et *bla_{TEM}* qui confèrent une résistance aux bêtalactamines), fonctions de transposition, fonctions de réplication et autres fonctions.

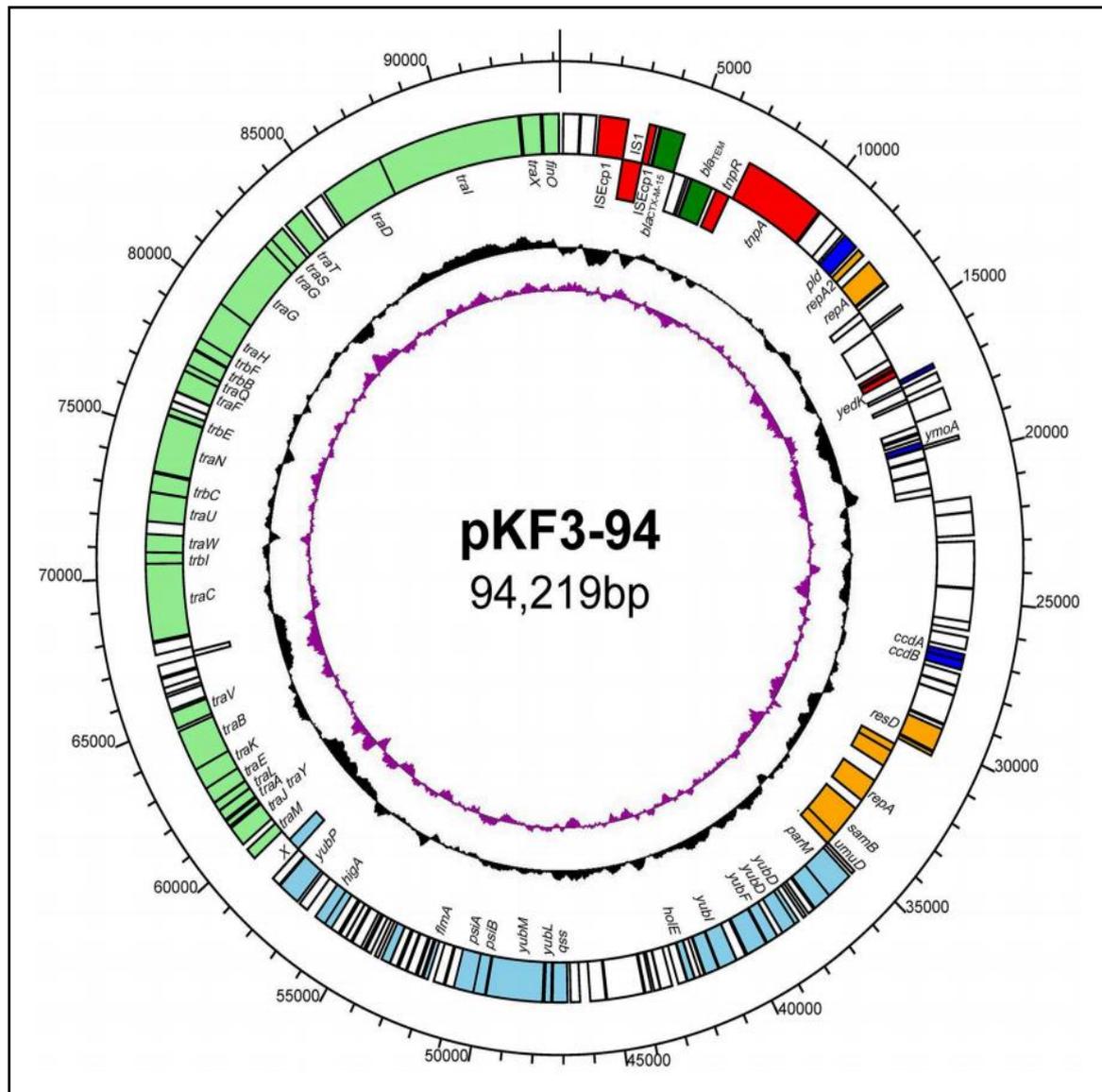


Figure 11. Carte circulaire du plasmide pKF3-94 isolé d'une souche hospitalière de *Klebsiella pneumoniae* (YING et al., 2015).

En comptant de l'extérieur vers le centre ; le premier cercle réfère a la position des genes par rapport aux paires de bases (pb). Le deuxième cercle caractérise les genes codés sur les brins principaux (a l'extérieur) ou sur les brins tardifs (a l'intérieur). Les régions fonctionnelles sont représentées en différents couleurs ; vert indique les genes de résistance aux antibiotiques, rouge indique des séquences d'insertion ou de transposition, orange indique les genes de réplifications, bleu claire indique les régions prépondérant de transfert, vert clair indique les régions de transfert conjugatif, bleu indique des genes avec d'autres fonctions et le blanc indique des genes dont les fonctions sont inconnues. Le troisième cercle montre le contenant en CG avec une moyenne de 50%, ce par quoi une teneur en

G + C de plus de 50% est montrée vers l'extérieur et une teneur en G + C de moins de 50% vers l'intérieur. Le quatrième cercle montre le biais de CG (C-G/C+G) avec une inclinaison de CG positif vers l'extérieur et négatif vers l'intérieur (YING et al., 2015).

- Un autre type de plasmide dit pRYC11 (Figure 12) découvert en Espagne en 2004. C'est un plasmide circulaire d'une taille de 94893 pb et contient 100 ORFs dont 67 codent pour des protéines impliqués à la réplication, transfert conjugatif, maintenance et stabilité génétique, résistance aux antibiotique, éléments mobiles (transposon) et pour des enzymes de restriction. Une grande partie du plasmide pRYC11 (56%) prouvé une grande identité (96%) avec le plasmide pKpQIL qui est largement diffus chez l'espèce de *Klebsiella pneumoniae* mise en étude (ST258) (RODRÍGUEZ et al., 2015).

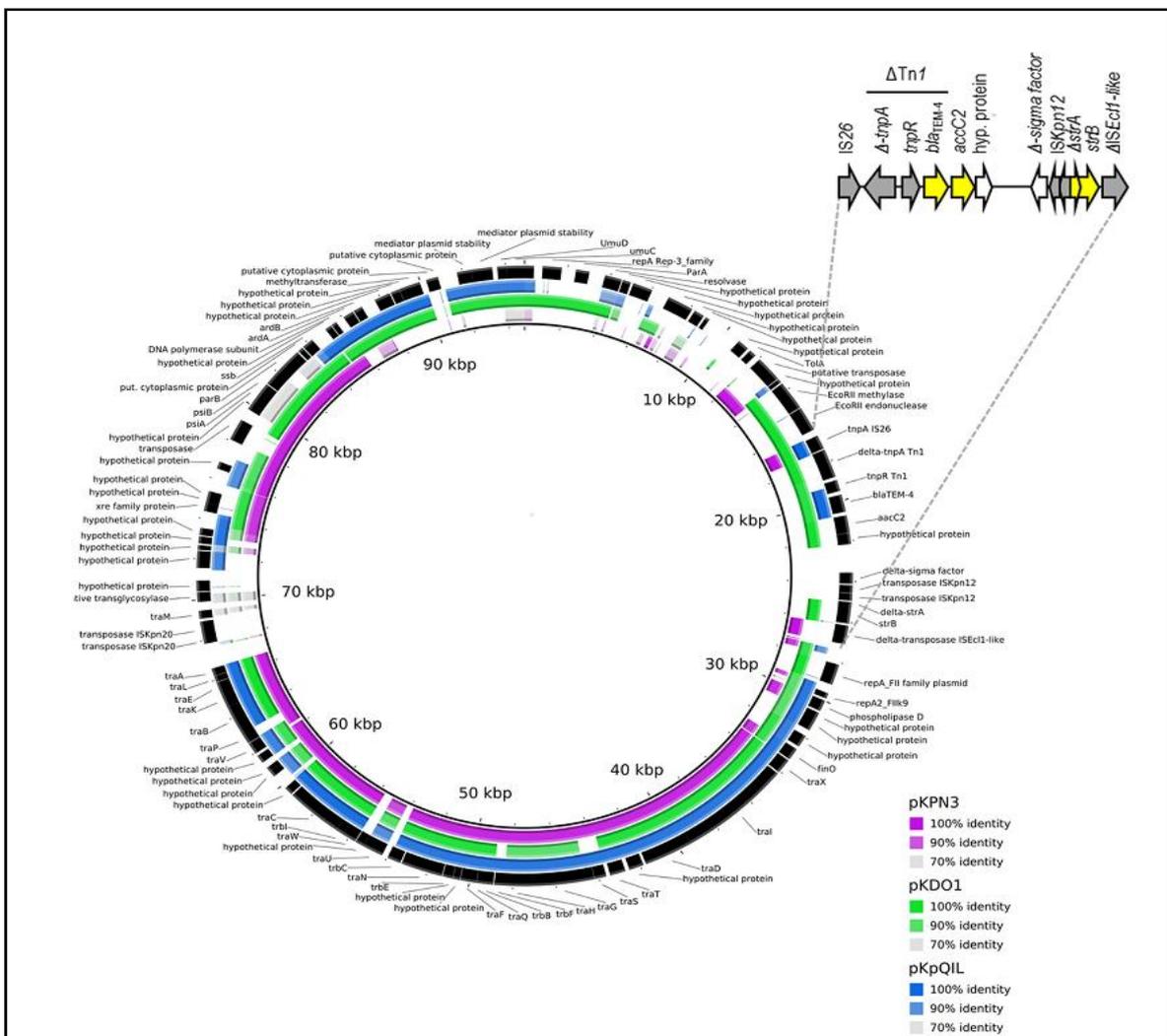


Figure 12. Carte circulaire du plasmide pRYC11 et leur comparaison par BLAST avec les plasmides pKDO1, pKpQIL, et pKPN3 (RODRÍGUEZ et al., 2015).

Cette figure est générée par BRIG (Blast Ring Image Generator), les flèches contenant dans le cercle noir à l'extérieur représentent les séquences codantes de pRYC11. Les 03 cercles internes représentent les régions partagés avec le plasmide pKPN3 (mauve), pKDO1 (vert) et pKpQIL (bleu). Le petit diagramme en haut est un schéma amplifié de la région variable de pRYC11 dont la couleur jaune représente les genes de resistance aux antimicrobiens (*aacC2* confère une resistance a la Gentamicine, *strA* et *strB* confèrent une resistance a la Streptomycine) et la couleur grise représente les genes codants pour des fonctions de transposition (RODRÍGUEZ et al., 2015).

Selon WANG et al. (2015), la coexistence des genes *bla_{KPC}* et *bla_{CTX-M}* chez *Klebsiella pneumoniae* a été rapporté dans plusieurs pays dans le monde. Par exemple la présence de groupe *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-1}*, le groupe *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-2}* et le groupe *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-8}* au Brésil. Les groupes *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-10}*, *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-15}*, et *bla_{KPC-3}/bla_{CTX-M-2}* en Israël. Le groupe *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-14}* en Chine et le groupe *bla_{KPC-2}/bla_{CTX-M-15}*.

En chine, WANG et al. (2015) ont détecté la présence d'une *Klebsiella pneumoniae* productrice des carbapenemase. L'isolat fait partie d'un prélèvement de liquide cébro-spinal d'un patient âgé de 64 ans qui a une infection intra-crâniale dans l'hôpital universitaire en octobre 2010. Cette *K. pneumoniae* porte *bla_{KPC-2}*, *bla_{CTX-M-55}*, *bla_{SHV}* et *bla_{TEM}* localisés sur le plasmide p628-KPC et *bla_{KPC-2}* et *bla_{CTX-M-55}* localisés sur le plasmide p628-CTXM.

Le plasmide p628-KPC est un plasmide circulaire d'une taille de 105008pb avec un moyen de CG égal a 53,22% et 127 ORFs. Il appartient au groupe d'incompatibilité IncFII_K et refuge IncFII_K *repA* et IncFI_B *repA2*. Ces 02 codent pour des protéines d'initiation de réplication. L'épine du p628-KPC de longueur 67515pb (couleur grise) est composée des fragments d'ADN pour la réplication du plasmide (*repA* et *repA2*) et pour la stabilité du plasmide (*parAB*, *stbAB*, *ssb* .etc.) et pour le transfert conjugatif (*tra*, *trb*.etc.) il contient aussi un fragment d'une taille de 34kb qui refuge 02 endroits de resistance aux antimicrobiens (l'endroit *mer* confère une resistance au mercure et l'endroit *bla_{KPC2}* confère une resistance aux Carbapénèmes) .

Le plasmide p628-CTXM est un plasmide d'une taille de 85338pb avec un moyen de CG égal a 49,71% et refuge 92 ORFs. Il appartient au groupe d'incompatibilité IncI1. L'épine de p628-CTXM (82375 pb) contient des régions d'ADN pour la réplication du

plasmide (*repY*, *repZ*, et *inc*), transfert conjugatif (*tra*, *trb*, *pil*.etc.) et la direction du transfert (*imp*, *yfa-yfh*, *yga-ygg* .etc.). Un autre composant est la région de stabilité du plasmide qui est composée de 03 genes (*yafA*, *yafB*, et *yagA*) qui est largement conservé parmi p628-CTXM, pKHSB1, et pEK204.

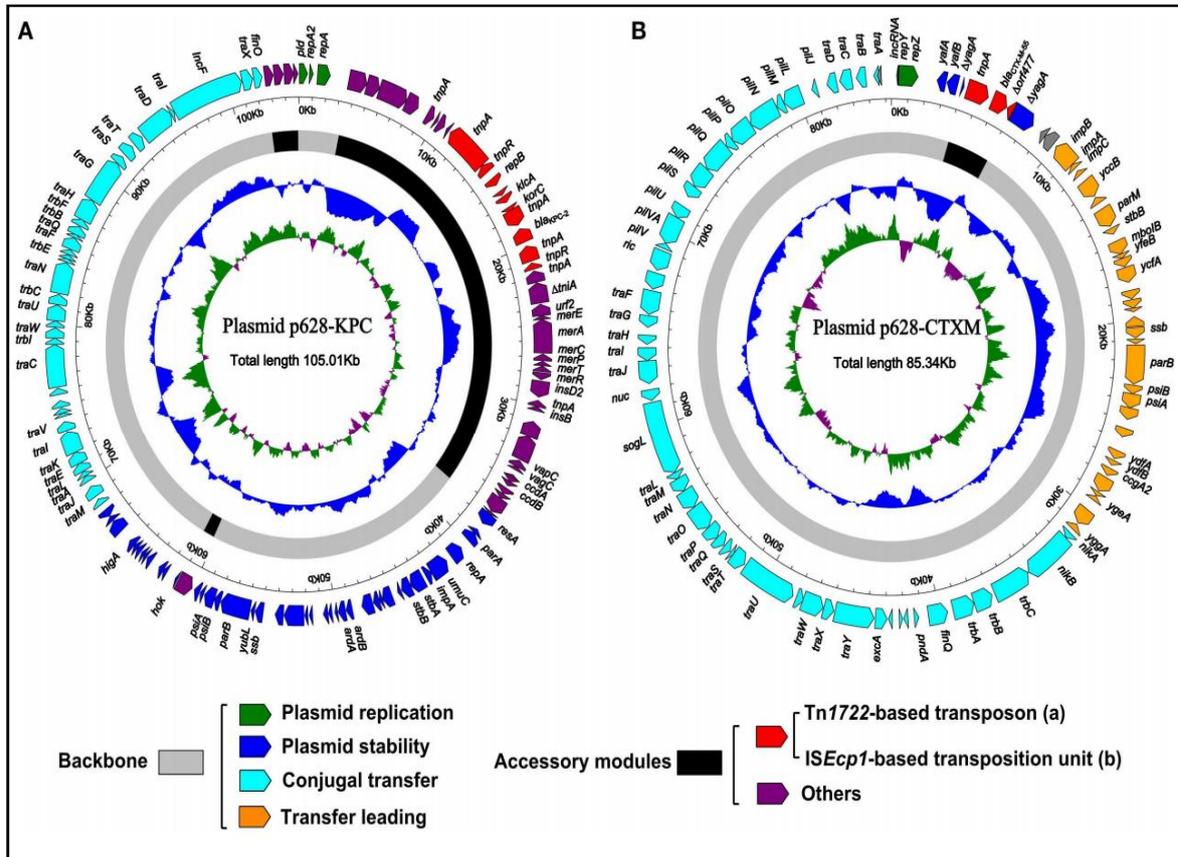


Figure 13. Carte circulaire des plasmides p628-KPC (A) et p628-CTXM (B) coexistés chez *Klebsiella pneumoniae* WANG et al. (2015).

2.2.2. Les éléments transposables et intégrons

1. Les transposons

Ce sont des Segments d'ADN de plus de 2 000 paires de bases, non autorépliatifs, flanqué de séquences caractéristiques de bases (disposées dans le même ordre ou en ordre inverse). Il peut faire partie de réplicons (ADN nucléaire, plasmides), desquels il peut se libérer et passer à un autre réplicon, ou à d'autres zones du même réplicon. Véhiculé par un réplicon, il peut passer à d'autres cellules. Son système d'incorporation est élémentaire, il n'exige pratiquement pas de reconnaissance et il peut s'insérer pratiquement en tout point d'une molécule d'ADN, même dans la séquence d'un gène ou d'un opéron, cas dans lequel il pourra être responsable de mutation par insertion. Il peut être porteur de marqueurs

divers (de résistance, métaboliques) ; ainsi, par exemple, les gènes responsables de la production de β -lactamases de type TEM (JACQUES et al., 2011). La forme la plus simple d'un tel gene mobile est une sequence d'insertion SI. Un certain nombre de SI ont été caractérisées dans des bactéries, d'une taille allant de 700 à 5000 paires de bases. Ils codent pour au moins une enzyme appelée transposase qui catalyse spécifiquement la recombinaison spécifique de site réalisé lors de la transposition.

Les éléments transposables impliqués dans la résistance aux antibiotiques sont les sequences d'insertion, les transposons composites et les transposons non composites. Les caractéristiques de ces 3 types sont montrées dans le Tableau 22.

Tableau 22. Caractéristiques et structure de base des éléments transposables impliqués dans la résistance aux antibiotiques (MERLIN et TOUSSAINT 1999).

Elément transposable	Caractéristique	Structure de base
Sequence d'insertion SI	<ul style="list-style-type: none"> - bordées par des séquences IR (inversement répétées) de 20 à 40 pb. - codent pour une enzyme dit transposase. 	
Transposon composite	<ul style="list-style-type: none"> - encadré de 2 éléments IS. - Codent le plus souvent pour des genes de resistance aux antibiotiques (kanamycine chez Tn5, tétracycline chez Tn10 ou chloramphénicol chez Tn9) ou genes cataboliques. 	
Transposon non composite	<ul style="list-style-type: none"> - l'absence d'IS à leurs extrémités. - La plupart codent pour une transposase (TnpA) et une résolvasse (TnpR). 	

2. Les intégrons

Contrairement aux transposons, les intégrons sont plutôt des « éléments mobilisateurs » que des éléments transposables proprement dits. Nous ne les discuterons donc pas en détail ici, sinon pour rappeler qu'ils résident sur les chromosomes, les plasmides ou les transposons, et piègent des séquences d'ADN appelées « cassettes », en aval du promoteur situé immédiatement en amont de *att I*. Ce sont les cassettes qui sont mobiles bien qu'elles ne véhiculent pas les gènes qui gouvernent leur mobilité. Les intégrons sont constitués d'un gène codant pour une intégrase et d'un site d'action pour cette enzyme, *att I*. Un autre

site d'action de l'intégrase appelé « élément de 59 paires de bases », localisé sur la cassette, permet à l'enzyme de catalyser l'intégration ou l'excision des cassettes mobiles dans l'intégrons. *att I* et l'élément de 59 paires de bases ne partagent que très peu de similitude. Les cassettes contiennent le plus souvent un gène de résistance aux antibiotiques (MERLIN et TOUSSAINT 1999).

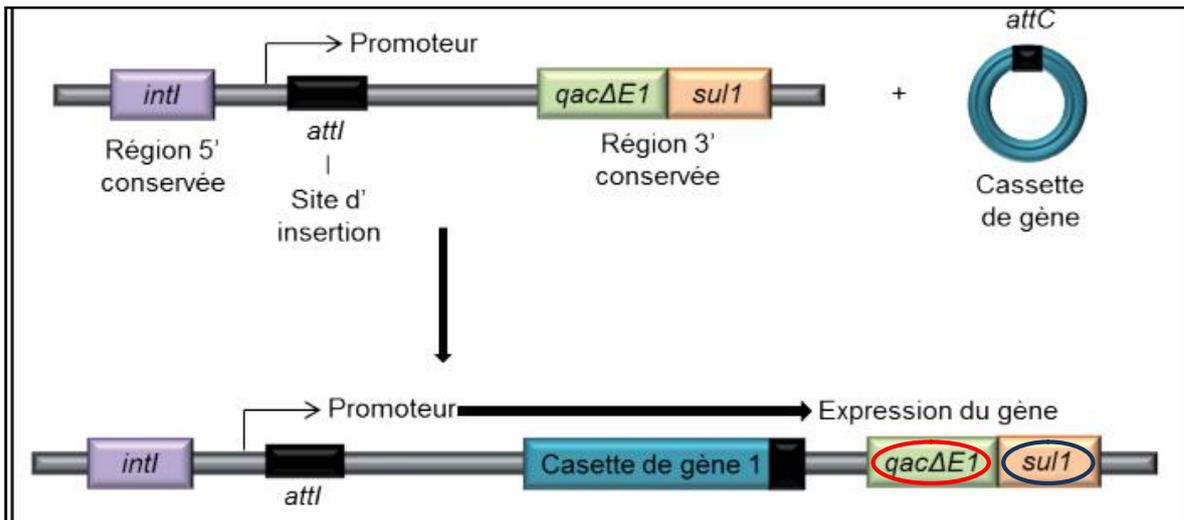


Figure 14. Structure d'un intégron de classe 1 et représentation du mécanisme de capture et d'expression d'une cassette de gène (MUYLAERT et MAINIL 2012).

La structure de l'intégron se compose du gène *intI* codant pour l'intégrase à l'extrémité 3' de laquelle se trouve un promoteur suivi d'un site d'insertion *attI*. L'intégrase catalyse une recombinaison entre le site *attC* d'une cassette de gène circulaire et le site d'attachement de l'intégron. Il en résulte une transcription du gène de résistance présent au niveau de la cassette par le promoteur de l'intégron.

qacΔE1 : gène de résistance aux ammoniums quaternaires, *sul1* : gène de résistance aux sulfamidés.

3. Cartographies des gènes de résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae KP048 est une souche hospitalière isolée d'un échantillon d'expectoration en chine l'an 2006. Elle porte le plasmide multiresistant pKP048 qui appartient au groupe F d'incompatibilité (Inc F). Il porte plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques tels que : *bla_{KPC-2}*, *bla_{DHA-1}*, *qnrB4*, et *armA*, conférant une résistance aux Carbapénèmes, Céphalosporines, Fluoroquinolones et aux Aminoglycosides respectivement. Ce plasmide porte aussi un cluster de gènes codant pour des protéines conférant une résistance aux métaux lourds (Mercure) et un gène codant pour une enzyme

2'-phosphotransférase Mph2 celui-ci confère une résistance aux Macrolides. On trouve aussi des gènes codant pour d'autres fonctions tels que : la réplication, la stabilité génétique, la plasticité des gènes et pour la conjugaison (YAN JIANG et al., 2010).

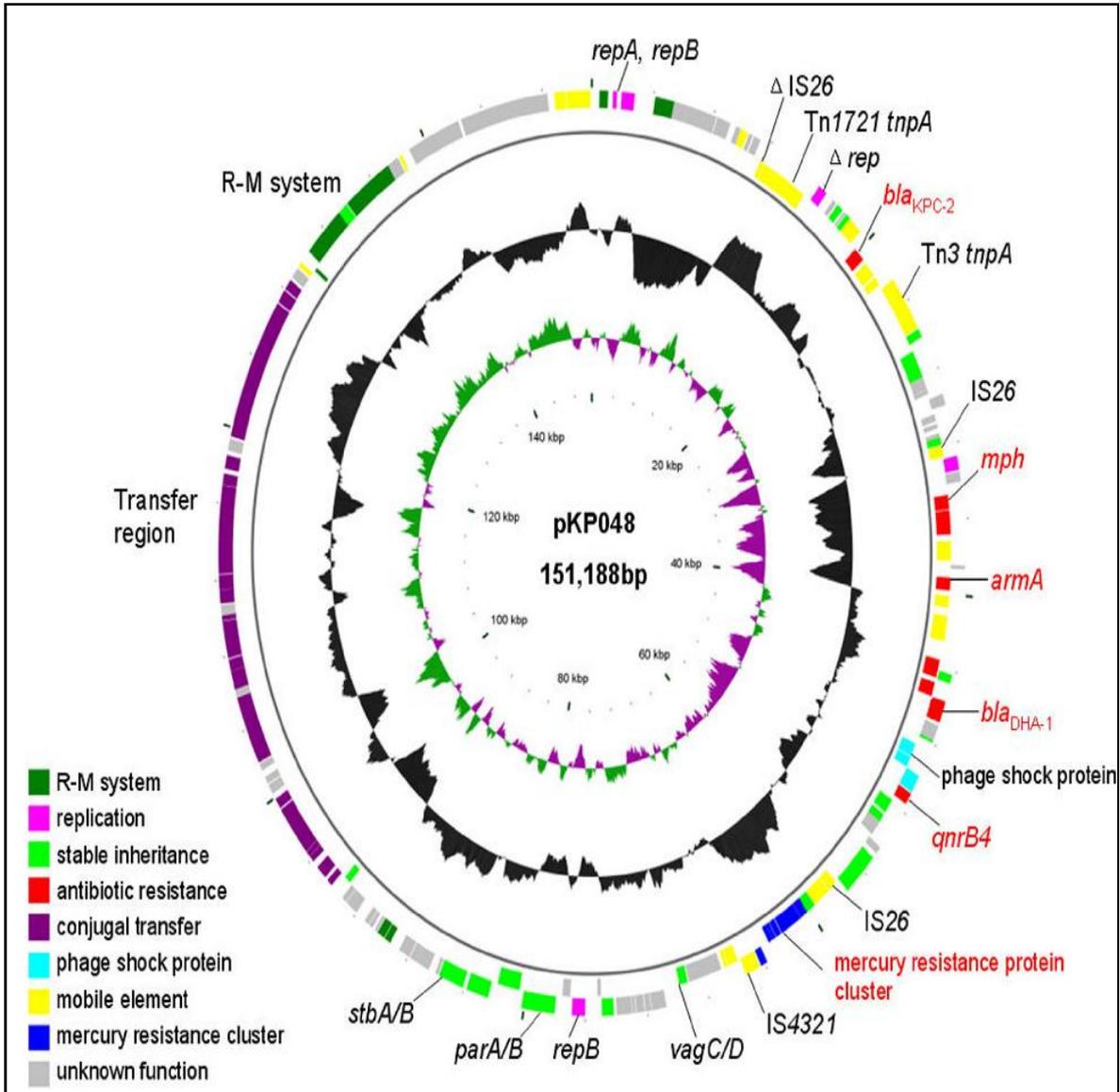


Figure 15. Carte génétique du plasmide multiresistant pKP048 isolé d'une *Klebsiella pneumoniae* hospitalière (YAN JIANG et al., 2010).

Les gènes sont représentés par des couleurs dans la clé.

Tableau 23. Résumé des gènes de résistances aux antibiotiques, leurs fonctions, localisation et le phénotype de résistance.

Gènes	Enzymes	Phénotypes de résistance	Support génétique	Références bibliographique
<i>bla</i> _{KPC-2}	KPC2	Carbapénèmes	Plasmide (pKP048)	MA et al (2008) ; YAN JIANG et al (2010)
<i>bla</i> _{DHA-1}	/	Céphalosporines		
<i>qnrB4</i>	QnrB4	Fluoroquinolones		
<i>armA</i>	/	Aminoglycosides		
<i>mph2</i>	2'-phosphotransférase	Macrolides		
<i>bla</i> _{VIM-1}	Métallo-β-lactamase	β-lactamines (IPM)	Plasmide (pNL 194)	MA et al (2009) ; MIRIAGOU et al (2010) ; HUDSON et al (2014) ; CAMBOU et GUILLARD (2012)
<i>aacA7</i>	aminoglycoside-adényl transférase	Aminoglycosides		
<i>aadA1</i>				
<i>aadA2</i>				
<i>dfrA1</i>	dihydrofolate réductase (DHFR)	Diaminopyrimidines (Triméthoprine)		
<i>dfrA12</i>				
<i>aphA1</i>	Kanamycine phosphotransférase	Kanamycine		
<i>strA-like</i>	Stréptomycine phosphotransférase	Streptomycine		
<i>strB-like</i>				
<i>sul1</i>	dihydroptéroate synthase	Sulfonamides		
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	CTX-M-3	β-lactamines	pKOX-R1	MIRIAGOU et al (2010) ; HUANG et al (2013) ; HUDSON et al (2014)
<i>bla</i> _{TEM-1}	TEM-1			
<i>bla</i> _{SHV-12}	SHV-12			
<i>aadA2</i>	/	Aminoglycosides		
<i>aadA5</i>	/			
<i>aac(6)-Ib</i>	/			
<i>Dfr</i>	/			
<i>Sul</i>	/	Sulfonamides		
<i>bla</i> _{KPC-2}	KPC2	β-lactamines (Oximino-Céphalosporine et l'Imipénème)	Tn4401	POOL (2004) ; CUZON et al (2010) ; CHEN et al (2012) ; BOUTET-DUBOIS et al (2012) ; FRASSON et al (2012)
<i>aac(6)-Ib</i>	/	Tobramycine, Amikacine, Nétilmycine, Sisomycine	pJHCMW1 (Tn1331)	SARNO et al (2002) ; HUDSON et al (2014)
<i>aadA1</i>	/	Aminoglycosides		
<i>bla</i> _{OXA-9}	/	β-lactamines		
<i>bla</i> _{TEM-1}	/	Pénicillines, quelques Céphalosporines		
<i>qnrA</i>	QnrA	Quinolones et Fluoroquinolones à bas niveau	Intégron de classe I	RODRIGUEZ-MARTINEZ et al (2006) ; MERADI et al (2009)
<i>qnrA3</i>	/	Quinolones (Ciprofloxacine) et Fluoroquinolones à bas niveau	(pHe96) Intégron de classe I.	PARK et al (2006) ; LASCOLS et al (2008)
<i>aac(6)-Ib-cr</i>	aminoglycoside acétyl transférase			
<i>bla</i> _{OXA-1/30}	/	β-lactamines		
<i>CatB3</i>	/	Phénicoles (CHL)		
<i>arr-3</i>	/	Fosfomycine, Rifampicine		
<i>qacEA1</i>	/	Ammonium quaternaire		
<i>Dfr</i>	/	Triméthoprine		HUDSON et al (2014)
<i>bla</i> _{VIM-1}	Métallo-β-lactamase (classe B).	β-lactamines (IPM)	Intégron de classe I (pNL194)	VATOPOULOS (2008) ; CASTANHEIRA et al (2009) ; MIRIAGOU et al (2010) ; HUDSON et al (2014)
<i>aacA7</i>	aminoglycoside adényl-transférase.	Aminoglycosides		
<i>aadA</i>				
<i>dfrA1</i>	dihydrofolate réductase	Triméthoprine		

Partie I : Synthèse bibliographique

<i>bla</i> _{NDM-1}	/	β-lactamines (Imipénème)	Plasmide conjugatifs (Inc H)	POIREL et al (2011) ; VILLA et al (2012)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	/			
<i>qnrB1</i>	/			
<i>bla</i> _{SHV-1}	SHV-1	pénicillines et les céphalosporines à spectre étroit	Séquence d'insertion (IS26)	POOL, (2004) ; JAIN et MONDAL (2008)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	CTX-M-15	Céfotaxime, Céftriaxone	Séquence d'insertion (ISEcp1)	ARAFA (2011) ; ELHANI et al (2011)
<i>bla</i> _{SHV11}	SHV11 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines	1. pKpn2146b 2. Chromosome	HUDSON et al (2014)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	CTX-M-15 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines, Aztréonam	1.pKpn 2146b (ISEcp1) 2.Chromosome(ISEcp1)	
<i>bla</i> _{TEM-1}	TEM-1 (Classe A)	Pénicillines, quelques Céphalosporines	pKpn2146b (Tn2)	
<i>bla</i> _{OXA-1}	OXA-1 (Classe D)	Pénicillines	pKpn2146b ΔIn37	
<i>aac(6)-Ib</i>	<i>aac(6)-Ib</i> (1)	Tobramycine, Amikacine, Nétilmycine, Sisomicine	pKpn2146b (ΔInTn1331)	
<i>Sul2</i>	<i>Sul2</i>	Sulfonamides	pKpn2146b (ISCR2)	
<i>dfrA14</i>	<i>DfrA14</i>	Triméthoprime	pKpn2146b (In191)	
<i>qnrB9</i>	<i>QnrB9</i>	Quinolones, Fluoroquinolones	pKpn2146b	

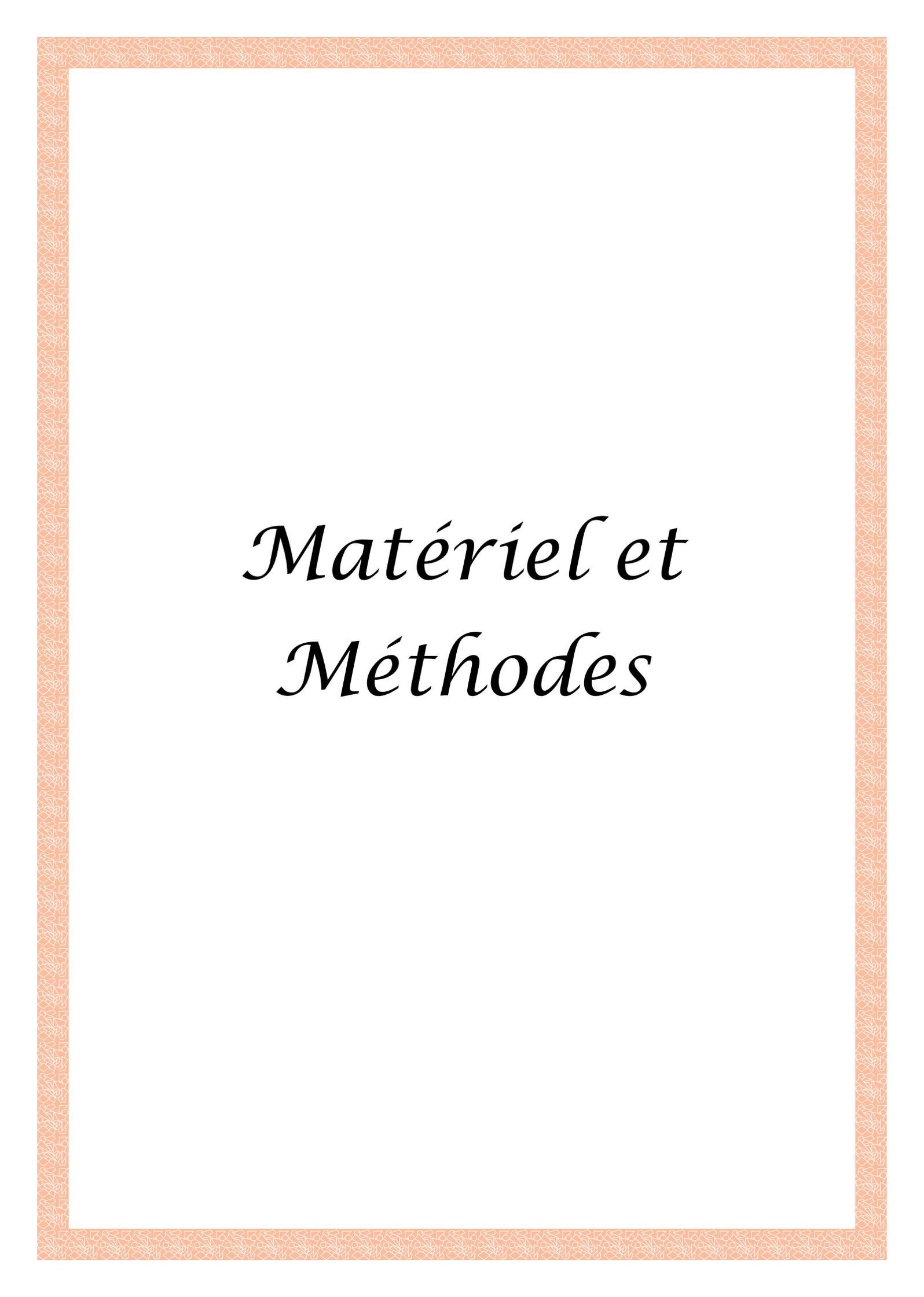
4. Dissémination de la résistance aux antibiotiques

La diffusion de la résistance s'effectue soit par la diffusion des gènes de résistance soit par la diffusion des souches bactériennes résistantes. Les plasmides, les éléments génétiques transposables et les intégrons peuvent diffuser entre bactéries phylogénétiquement éloignées.

La diffusion des souches résistantes se fait par des mécanismes similaires à celui de la diffusion des souches sauvages et elle sera donc fonction de l'espèce bactérienne et de la nature des infections communautaires ou nosocomiales et dans ce dernier cas la transmission se fait par le matériel de soins ou de diagnostic contaminé et essentiellement par les mains sales du personnel soignant.

Chez *Klebsiella pneumoniae* la transmission est principalement manu portée. Il convient toutefois d'insister sur la transmission à l'homme de bactéries résistantes d'origine animale et réciproquement. Cette transmission conduit, parfois, à l'interdiction des antibiotiques en médecine vétérinaire. Ce sont les transmissions à l'homme de souches de *salmonelles* résistantes d'origine animale ou de souches de *Campylobacter jejuni* résistantes aux fluoroquinolones (soit par contact direct soit par ingestion d'aliments mal cuits) qui ont suscité le plus de polémiques (SEKHRI 2011).

Partie II :
Recherche
Expérimentale



Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes

La wilaya de Bordj Bou Arreridj est une wilaya qui s'étend du sud de la Kabylie à la région des Hauts-Plateaux, à cheval sur la chaîne de montagne des Bibans, occupant une place stratégique à mi-parcours du trajet séparant Alger de Constantine. Le Chef lieu de la wilaya est situé à 220 km à l'est de la capitale Alger.

Cette wilaya qui s'étend sur une superficie de 3 921 km² pour une population de 684 927 habitants (soit une densité: 175 habitant /km²), est composée de 10 daïras réparties comme suit : Bordj Bou Arreridj, Aïn Taghrout, Ras El Oued, Bordj Ghedir, Bir Kasdali, El Hamadia, Mansoura, Medjana, Bordj Zemoura et Djaafra.

Sur le plan de la couverture sanitaire, la wilaya dispose de plusieurs infrastructures sanitaires :

Le secteur public dispose de 3 hôpitaux généraux à Bordj Bou Arreridj, Ras El Oued et Medjana, 1 hôpital spécialisé « Mère-enfant » équipé de 200 lits au chef-lieu de wilaya récemment réhabilité, 43 polycliniques dont 18 avec maternité intégrée disposant de 86 lits, 130 salles de soins, 26 points de garde médicale 24/24h avec 59 lits d'urgence, 3 hôpitaux de 60 lits à Bordj Ghedir, Mansourah et Zemoura, 4 Centres médico-sociaux et 26 agences pharmaceutiques. Ces structures fonctionnent avec : 74 médecins spécialistes ; 464 médecins généralistes ; 108 chirurgiens dentistes et 1584 paramédicaux.

Durant ce stage de master de l'année 2015 à 2016 réalisé dans le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Bouzidi Lakhdhar à Bordj Bou Arreridj et le laboratoire de bactériologie de l'établissement public de santé de proximité dans la commune de Medjana, nous sommes intéressés à isoler, identifier et étudier l'antibiorésistance des souches de *Klebsiella* spp. isolées de prélèvements divers : urine, pus, sang et vagin. Les isolats étaient d'origines communautaires et hospitalières.

1. L'hôpital Lakhdhar BOUZIDI

L'hôpital Bouzidi Lakhdhar créé en Mai 1985 est la structure siège du secteur sanitaire de Bordj Bou Arreridj. Il occupe une superficie totale de 7 hectares dont 48% est une superficie bâtie et 52% vide. Leur capacité en lits est de 249 lits répartie en plusieurs services médicaux. L'hôpital est fait de 4 bâtiments.

Le premier bâtiment est construit de 5 étages ; le rez de chaussée est constitué d'un service des urgences médicales chirurgicales (UMC) équipé de 13 lits, un bloc opératoire, un service de réanimation, un service d'hémodialyse, service de radiologie et laboratoire des urgences médicales. Le premier étage contient un service de chirurgie orthopédique avec 33 lits, un service d'O.R.L avec 10 lits et un service d'ophtalmologie mené par 6 lits. Le deuxième étage contient un service de chirurgie générale équipé par 46 lits et un service de neurochirurgie équipé par 14 lits. Le troisième étage contient un service de médecine interne équipé par 30 lits et un service de cardiologie mené par 30 lits. Le quatrième étage contient un service de gastro-entérologie mené par 30 lits et un service de pneumo-phtisiologie mené aussi par 30 lits.

Le deuxième bâtiment représente le centre de transfusion sanguine. Le troisième bâtiment contient la direction générale, le laboratoire centrale, le laboratoire d'anatomie pathologique, service de médecine légale, service d'épidémiologie et le service d'hématologie. Le quatrième bâtiment est consacré au service d'oncologie et l'unité d'intervention rapide.

Le laboratoire central est un service large constitué de plusieurs laboratoires spécialisés : laboratoire de biochimie, laboratoire de sérologie, laboratoire de parasitologie, laboratoire d'hématologie et un laboratoire de bactériologie. Tous ces laboratoires assurent la majorité des examens médicaux. Le laboratoire de bactériologie réceptionne environ de 15 ECBU (Etude Cyto-Bactériologique des Urines) par jour. En plus de ces laboratoires il existe un laboratoire d'anatomie pathologique équipé de tout le matériel nécessaire.

Le personnel : L'hôpital Bouzidi Lakhdhar comprend plusieurs médecins dont chacun dans son spécialité : des médecins généralistes, oncologue, rhumatologue, gastroentérologue, cardiologue, pneumo-phtisiologue, pédiatre, gynécologue, anesthésiste, neurologue, ophtalmologue, réanimateur, médecin légiste, ana-pathologiste, parasitologue, biochimiste, bactériologue, épidémiologue, radiologue, traumatologue et un médecin biologiste.

2. L'établissement public de santé de proximité de Medjana

L'EPSP de Medjana crée lors de la réorganisation sanitaire du 19 mai 2007 par décret exécutif n° 140/07 portant création d'un établissement public de santé de proximité. Il

couvre 4 communes à savoir : Medjana, Theniet Ennasr, Zemmourah et Hasnaoua. Le laboratoire de l'EPSP est constitué de plusieurs paillasse :

- Paillasse de biochimie, paillasse de sérologie, paillasse d'hématologie.
- Paillasse de bactériologie et parasitologie qui reçoit environ 15 ECBU par jour.
- Paillasse de recherche de Mycobacterium (Bacille de Koch)

Afin de mieux observer le phénomène d'antibiorésistance de *Klebsiella* dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, on a collecté les résultats des antibiogrammes faits pour *Klebsiella* isolée des différents prélèvements durant les années 2013 et 2015 et les mois de janvier et à février 2016.

1.1. Matériel et produits

Le matériel et les produits utilisés dans l'étude sont résumés dans le Tableau 24.

Tableau 24. Matériel et produits

Matériel	Produits
-Ecouvillons stériles -Anse de platine -Pipette graduées -Tubes à essais stériles -Boîtes pétri stériles -Etuve -Bec bunsen -Vortex -Spatule -Barreau magnétique -Balance de précision -Tubes Eppendorf -Pipettes pasteur -Eprouvettes -Erlenmeyer -Micropipette automatique -Pissette -Embouts stériles -Papier buvard -Flacons en verre avec bouchon rodé - portoir de tubes - plaque chauffante agitatrice -tube à hémolyse- Cuves spectrophotomètre. - spectrophotomètre (SHIMADZU).	Isolement et identification : -Gélose Hecktoen -Gélose Nutritive -Bouillon Nutritif -Eau physiologique stérile -Eau distillée Conservation : -Glycérol -Bouillon Nutritif Antibiogramme : -Gélose Mueller-Hinton -Antibiotiques en disque

1.1.1. Les isolats bactériens

La collecte des données concernant l'antibiorésistance des espèces de *Klebsiella* dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj s'étend sur environ 14 mois, de janvier 2015 à février

2016. Le Tableau 25 résume les fréquences d'isolement des espèces de *Klebsiella* de janvier 2015 à février 2016.

Tableau 25. Fréquence d'isolement de 106 souches de *Klebsiella* spp. dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj (2015/2016).

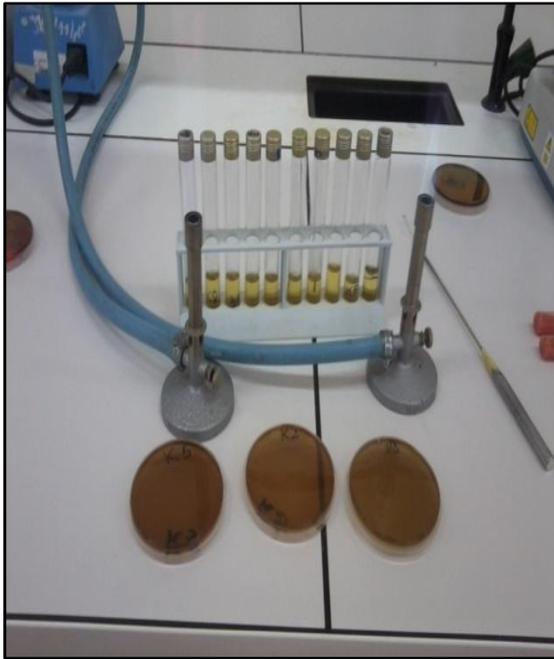
Années et mois		Nombre de souches	Pourcentage %
2015	Janvier	0	0
	Février	0	0
	Mars	0	0
	Avril	01	0,95
	Mai	05	4,72
	Juin	03	2.84
	Juillet	04	3.77
	Aout	19	17.92
	Septembre	17	16.03
	Octobre	06	5.66
	Novembre	12	11.32
	Décembre	12	11.32
2016	Janvier	12	11.32
	Février	15	14.15
Total		106	100

Parmi 106 souches de *Klebsiella* spp étudiées de 2015 à 2016, 54 sont isolées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Bouzidi Lakhdhar de Bordj Bou Arreridj et 52 au niveau de laboratoire de l'EPSP de Medjana. On a manipulé 1 seul espèce de *Klebsiella pneumoniae* de l'hôpital de BBA au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et de la Technologie (Centre Universitaire Abdelhafidh BOUSSOUF de Mila). Cette souche provenait d'un prélèvement urinaire.

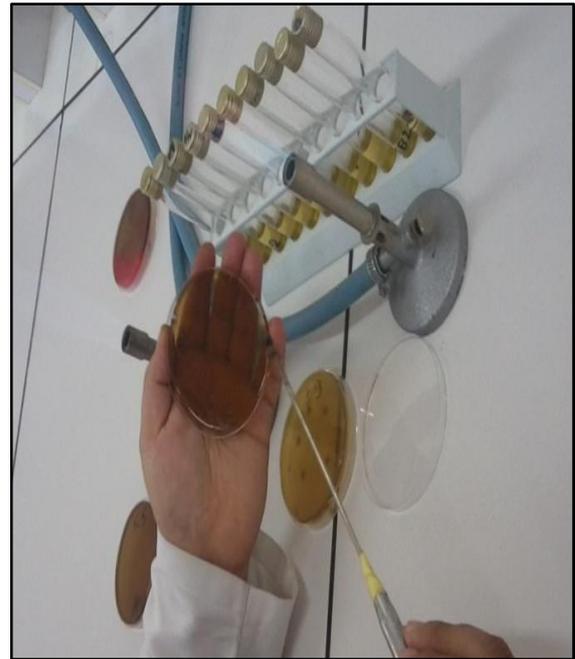
1.2. Méthodologie

1.2.1. Repiquage et ensemencement des souches

La souche est repiquée sur milieu gélose nutritive puis incubée dans l'étuve à 37°C pendant 24h (Figure 16). Après cette première incubation la souche est isolée sur milieu sélectif Hecktoen par des stries transversales puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h. *Klebsiella* donne sur Hecktoen des colonies à aspect muqueux avec une couleur orange pré de la couleur du miel.



A



B



C

Figure 16. Repiquage et ensemencement des souches **A** : matériel sur la paillasse, **B** : ensemencement sur Hecktoen, **C** : incubation dans l'étuve.

1.2.2. Réalisation de l'antibiogramme

La méthode de diffusion sur gélose est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries

pathogènes incluant les bactéries à croissance lente; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier (ANONYME 6, 2015).

L'antibiogramme est le résultat de l'étude *in vitro* de la sensibilité d'un germe à différents antibiotiques. Il permet de guider le traitement de l'infection déterminée par ce germe (JACQUES et al., 2011).

Pour chaque souche de *Klebsiella* spp. isolée un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller Hinton qui est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic et qui permet la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Klebsiella* spp. Le protocole utilisé dans notre étude est celui du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie et qui est réalisé selon des étapes bien déterminés (ANONYME 6, 2015).

► Préparation du matériel utilisé pour l'antibiogramme

- Gélose Muller-Hinton coulée en boîte pétri.
- Disques d'antibiotiques.
- Souche pure de la bactérie à étudier.
- Ecouvillons.
- Tubes à essais stériles.
- Pincés stériles.
- Bec bunsen.
- Agitateur vortex.
- Portoir des tubes.
- Pipette pasteur.
- Eau physiologique stérile.
- Cuves et spectrophotomètre.

► Milieu pour antibiogramme (Muller-Hinton)

- Le milieu préparé précédemment doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- La surface de la gélose doit être séchée avant l'emploi.

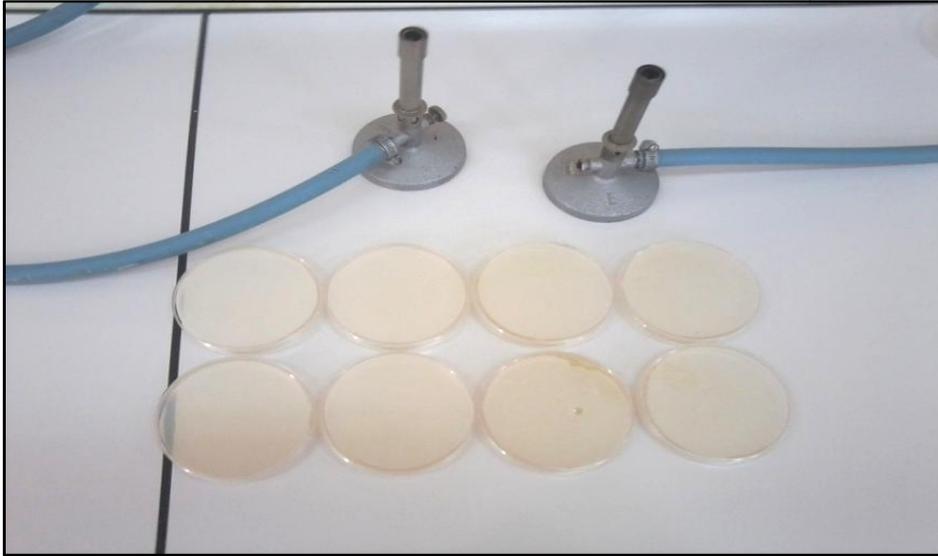
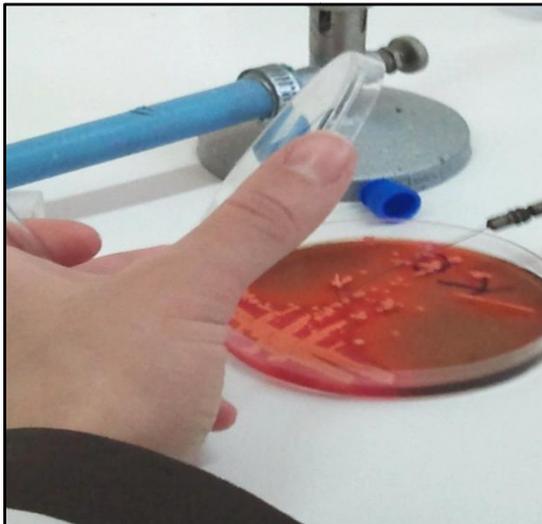


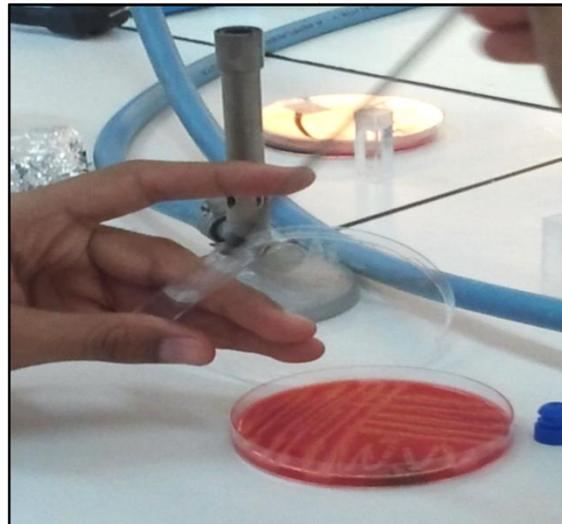
Figure 17. Milieu Muller-Hinton en boites pétri

► **Préparation de l'inoculum**

- A partir de colonies isolées de la culture bactérienne pure et jeune incubée 18 à 24 h à 37°C, réaliser une suspension bactérienne en solution d'eau physiologique stérile.
- Mélanger vigoureusement le tube à l'aide d'un Vortex.
- Il est recommandé d'employer un spectrophotomètre pour ajuster l'inoculum pour atteindre une turbidité équivalente à 0.5 McFarland ou a une D.O. de 0,08 à 0,13 à 625 nm.



A



B



C



D

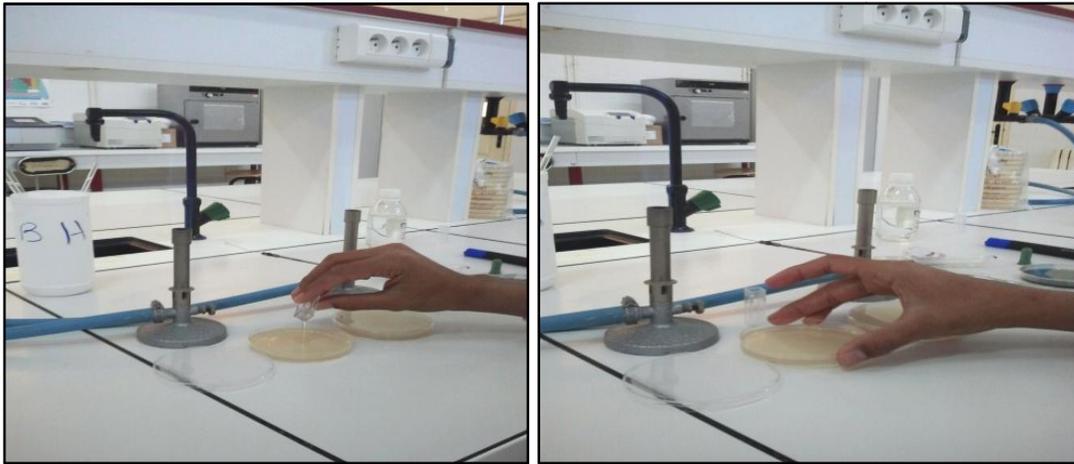
Figure 18. Préparation de l'inoculum. **A** : récupération des colonies à l'aide de l'anse de platine, **B** : dilution dans l'eau physiologique, **C** : agitation à l'aide du Vortex, **D** : spectrophotomètre pour régler la densité optique.

► **Ensemencement** : pour cette étape on a opté à utiliser la méthode d'ensemencement par inondation. L'ensemencement par inondation est réalisé comme suit :

- Prendre 3 à 4 colonies bien isolées et dissoudre dans l'eau physiologique stérile.
- Régler la densité optique par le spectrophotomètre à une longueur d'onde 625 nm (D.O = 0.08-0.13). Diluer avec l'eau physiologique stérile pour diminuer la DO dans la gamme recommandée.
- Inonder la surface de la gélose Muller-Hinton puis réaspirer l'excès du liquide par une pipette pasteur.
- Laisser à sécher sur la paillasse devant le bec bunsen pendant 10 minutes.

Pour la méthode des stries, elle est réalisée comme suit :

- L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans environ 15 min qui suivent sa préparation.
- Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.



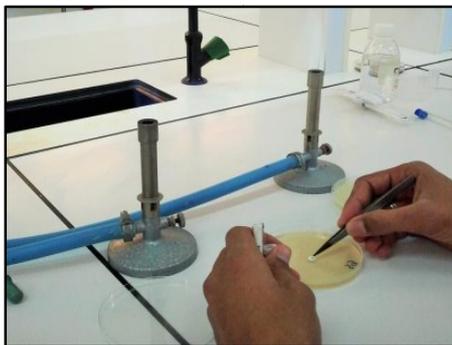
A

B

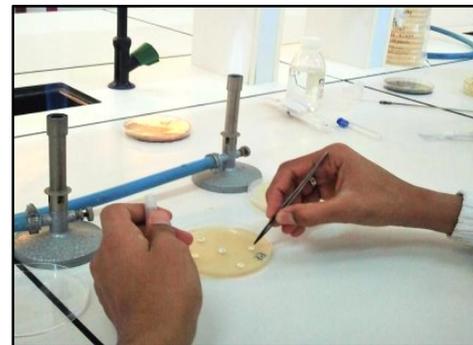
Figure 19. Ensemencement par la méthode d'inondation

► Application des disques d'antibiotiques

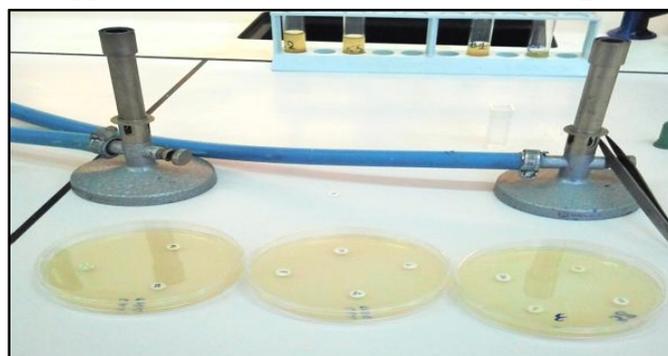
- Déposer les disques fermement sur la surface de la gélose inoculée et laisser sécher. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.



A



B



C

Figure 20. Dépôt des disques d'antibiotiques

► Incubation

- Retourner les boîtes et les incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min.
- Respecter la température et la durée d'incubation recommandées. Pour *K. pneumoniae* les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pendant 16 à 24h.



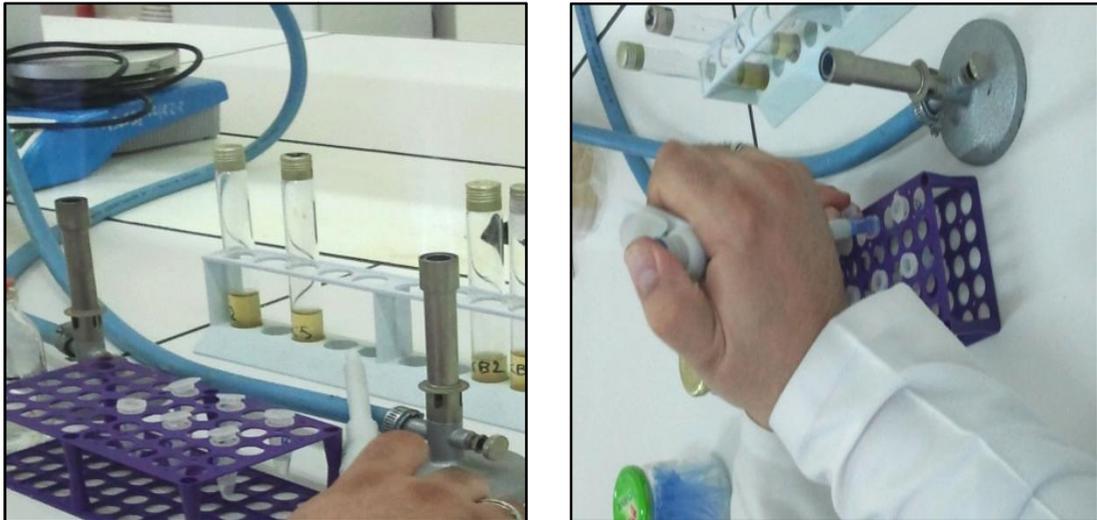
Figure 21. Incubation des boîtes d'antibiogramme dans l'étuve à 37°C durant 16 à 24h

► La lecture

- Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques (Annexes) (ANONYME 6, 2015).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Résistante ou Intermédiaire.

1.2.3. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans le bouillon nutritif glycérolé à 20 % (800µl du bouillon nutritif + 200µl du glycérol) en tubes Eppendorf, au congélateur à -20°C. Le but est de préserver la viabilité des cellules et leur stabilité génétique.



A

B

Figure 22. Conservation des souches dans le bouillon nutritif glycérolé

1.2.4. Étude statistique

Pour l'étude statistique de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, on a choisi de construire l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) en utilisant le logiciel Xlstat 2014 pour 16 antibiotiques appartenant à différentes familles et quatre types de prélèvements : Urine, Pus, Hémoculture (sang) et Vagin.

Il s'agit d'une méthode qui permet d'étudier l'association entre deux variables qualitatives. Cette méthode est basée sur l'inertie, dans notre cas la première variable est le type de prélèvement et la deuxième est les antibiotiques.

Avant de commencer cette analyse, il faut convertir les pourcentages du tableau en des chiffres entre 0 et 1 (par exemple 100% devient 1 et 78% devient 0,78).



Résultats et Discussion

2. Résultats et Discussion

Les tests d'identification phénotypique et les tests de l'antibiogramme sont effectués au niveau du laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila (2015-2016).

2.1. Aspect macroscopique



Figure 23. Aspect macroscopique des colonies de *K. pneumoniae* sur gélose Hecktoen. Les colonies sont rondes, grandes (de 3 à 4 mm), lisses, bombées, brillantes et confluentes (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).

2.2. Galerie biochimique de *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 26. Résultats de l'identification biochimique de *Klebsiella pneumoniae*

TSI					Citrate de Simmons	Mannitol mobilité		Urée indole		ONPG
Glu	Sacch	Lac	H ₂ S	Gaz		Mannitol	mobilité	Urée	indole	
+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+

2.3.Résultats de l'antibiogramme

Pour les résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (K 38). La sensibilité aux antibiotiques se manifeste par des zones d'inhibition (Tableau 27).

Tableau 27. Résultats de l'antibiogramme de *K. pneumoniae* (K 38).

<p>38 PT PRISTINAMYCINE R VA VANCOMYCINE R AX AMOXCILLINE R NA ACIDE NALIDIXIQUE R</p>	<p>Résultat de l'antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> K38. Résistant : PT, VA, NA, AX. Intermédiaire : / Sensible : / (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
<p>38 GEN GENTAMYCINE S AK AMIKACINE S CX CEFOXITINE I CL CEFALIXINE R</p>	<p>Résultat de l'antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> K38. Résistant : CL. Intermédiaire : CX. Sensible : GEN, AK (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>
<p>38 CT COLISTINE R ETP ERTAPENEME I IMP IMPINEME S</p>	<p>Résultat de l'antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> K38. Résistant : CT Intermédiaire : ETP Sensible : IMP (Photo réalisée dans le laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila).</p>

K : *Klebsiella*, IMP : Imipénème, ETP : Ertapénème, CT : Colistine, GEN : Gentamycine, AK : Amikacine, CX : Céfoxitine CL : Céfalexine, PT : Pristinamycine, VA : Vancomycine, NA : Acide Nalidixique, AX : Amoxicilline.

Partie II : Recherche Expérimentale

Tableau 28. Profil de résistance aux antibiotiques de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de janvier 2015 à février 2016. Selon le sexe, l'âge, la nature du prélèvement et le service d'hospitalisation.

N°	Date	Age	Sexe	Nature du prélèvement	Service	R	I	S
1B	01-04-2015	AD	F	HEMO	R.E.A	AMC, FOX, CIP, CZ, CRO, CAZ, CTX, GEN, NA	/	AK, SXT, IPM
2B	03-05-2015	AD	F	URINE	EXT	AMP	/	AMC, CPO, SXT, CTX, FOX, CIP, CZ, NA, AK, IPM, GEN
3B	04-05-2015	AD	M	PUS	EXT	AMP, P	/	AMC, FOX, CZ, CIP, CTX, SXT, CRO, AK, OFX, IPM, GEN
4B	11-05-2015	AD	F	URINE	EXT	P, AMP	/	FOX, SXT, GEN, NA, AK, AMC, CIP, CZ, IPM, CTX, CPO
5B	25-05-2015	AD	F	P.VAG	EXT	CTX, AMP, CZ, GEN, K, SXT	/	IPM, NA, AK, CIP, FOX, AMC
6B	25-05-2015	ENF	M	URINE	EXT	AMP, CZ, FT	/	GEN, NA, K, IPM, SXT, CIP, AK, FOX, CTX, AMC
7B	14-06-2015	AD	M	URINE	EXT	GEN, AMC, CZ, AMP, CAZ	CTX, K, FT	SXT, NA, AK, FOX, IPM
8B	21-06-2015	AD	F	URINE	EXT	AMP, AMC, FT	/	CTX, CZ, CIP, CN, IPM, NA, GEN, SXT, OFX
9B	28-06-2015	AD	F	URINE	EXT	GEN, CIP, E, TOB, AMC, CFM, CF, CTX, CZ, CRO, CAZ, FA, E	/	SXT, IPM, AK
10MJ	06-07-2015	AD	M	URINE	EXT	E, OX, FA, AMP, AMC, CN	/	C, AK, DO, CS, SXT
11MJ	13-07-2015	ENF	M	URINE	EXT	E, OX, FA, AMP, AMC, CS	/	AK, SXT, C, CN, DO
12MJ	26-07-2015	AD	F	URINE	EXT	AK, E, CS, CN, AMC, AMX, DO, OX, SXT, CZ	C, AMP	CTX, AK
13MJ	27-07-2015	AD	F	URINE	EXT	AMP, E, FA, AMX, AMC, OX, CN, CZ	/	CTX, AK, CS, DO, SXT, C
14MJ	02-08-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, CS, E, DO, OX, AMC, AMX, AMP	/	SXT, C, AK, CTX, CZ, CN
15MJ	02-08-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, SXT, E, OX, AMP,	/	CS, DO, C, AK, CTX, CZ, CN, AMX, AMC
16MJ	04-08-2015	ENF	F	URINE	EXT	AMC, AMP, OX, CN, CS, SXT	/	CTX, C, CZ, AMX, AK, E, DO, FA
17MJ	04-08-2015	AD	M	URINE	EXT	SXT, AMP, AMC, FA, OX	/	CTX, CZ, CS, DO, CN, AK, C, AMX, E
18MJ	09-08-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, E, DO, FA	/	CZ, CTX, SXT, AK, C, AMP, AMX, CS
19MJ	09-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMP, AMX, AMC, OX, E, FA, SXT	/	C, AK, CTX, CZ, DO, CN, CS
20B	09-08-2015	AD	F	URINE	EXT	VA, CAZ, AMC	/	GEN, TOB, IPM, CIP, K, CZ, CTX, CFM, FOX, CN
21MJ	10-08-2015	ENF	M	URINE	EXT	FA, OX, E	/	CZ, SXT, AMX, CTX, NA, C, AK, DO, CS
22B	13-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, CZ, CN, CAZ	/	NA, CTX, AK, GEN, SXT, IPM, CFM, CIP, CRO
23MJ	17-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMX, OX, CZ, CTX, CS, SXT, FA	/	AK, C, DO, E, NA
24MJ	17-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMX, OX, DO, E, NA, FA	/	CZ, CTX, AK, C, CS, SXT
25MJ	17-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMX, OX, DO, E, NA, FA	/	CZ, CTX, AK, C, CS, SXT
26B	17-08-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, CAZ	/	CFM, CRO, CIP, CTX, CN, GEN, SXT, IPM, FOX, AK
27B	18-08-2015	AD	F	URINE	EXT	CAZ, AMC	/	CTX, SXT, CRO, CL, CIP, CFM, IPM, FOX, AK, GEN, NA

Partie II : Recherche Expérimentale

28MJ	23-08-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, AMX, E, FA	/	C, AK, NA, DO, SXT, CS, CTX, CZ
29MJ	25-08-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, FA, E	/	AK, DO, CS, C, NA, SXT, AMX, CZ
30MJ	31-08-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, CS, C, AK, DO, E, SXT, CTX, AMX, CZ, OX, NA	/	/
31MJ	31-08-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, AMX, CZ, SXT, OX	E	CTX, NA, CS, C, AK, DO
32B	31-08-2015	AD	F	URINE	EXT	/	/	IPM, CRO, GEN, CTX, AK, FOX, K, CIP, AMC, CAZ, CZ, CFM
33MJ	06-09-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, E, OX	/	CS, NA, AK, C, DO, AMX, CTX, SXT, CZ
34MJ	06-09-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, SXT, AMX, CZ, DO, E, C, NA, FA	/	AK, CTX
35B	07-09-2015	AD	M	PUS	EXT	FA, TEC, CRO, AMC, RA, CIP	CTX	GEN, NA, K, TOB, AK
36B	07-09-2015	ENF	M	URINE	EXT	CFM, AMC, CTX, TEC, GEN	/	AK, NA, CIP, CRO, SXT
37MJ	13-09-2015	AD	F	URINE	EXT	E, OX, FA	/	SXT, CZ, C, CTX, AMX, AK, DO, CS, NA
38MJ	13-09-2015	AD	F	URINE	EXT	E, OX, AMX, FA	/	DO, CS, NA, AK, CTX, SXT, CZ, C
39MJ	14-09-2015	AD	F	URINE	EXT	AMX, E, OX, FA, CS	/	NA, AK, CZ, SXT, C, DO, CTX
40MJ	15-09-2015	ENF	F	URINE	EXT	CZ, NA, E, AMP, SXT, OX, FA, C, DO	/	AK, CS, CTX
41B	17-09-2015	AD	F	URINE	EXT	CTX, CZ, AMC	/	IPM, CIP, CRO, CFM, K, GEN, CTX, FOX, AK
42MJ	20-09-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, E, CZ, AMX, SXT, FA	/	C, AK, DO, CS, NA, CTX
43B	20-09-2015	AD	F	URINE	EXT	CZ, AMC, CRO	/	FOX, CTX, AK, GEN, K, IPM, CFM, SXT, CIP
44B	20-09-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC	/	CFM, SXT, CIP, CZ, AK, K, CRO, FOX, CTX, GEN, IPM
45MJ	27-09-2015	AD	F	URINE	EXT	FA, OX, E	/	CS, AK, C, NA, CZ, DO, AMX, SXT, CTX
46MJ	27-09-2015	AD	F	URINE	EXT	C, OX, FA, E, AMX, DO	/	NA, CTX, SXT, CZ, CS, AK
47B	27-09-2015	AD	M	PUS	EXT	FOX, CTX, AMC, CRO, DO, OX, CFM, CZ	SXT, OFX, CIP	IPM, AK, GEN
48B	28-09-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, SXT	/	CTX, CM, NA, FOX, K, IPM, CIP, CZ, CRO, CFM
49B	29-09-2015	AD	M	PUS	EXT	CZ, CRO, CFM, AMC, SXT, CTX, AK, FOX	GEN, K	IPM, CIP
50B	14-10-2015	AD	M	URINE	EXT	TEC, GEN, CTX, AMC, CRO, CZ, CFM, CN	ETP, FOX	ETP, FOX
51B	19-10-2015	AD	M	URINE	EXT	AMC	/	CIP, CRO, IPM, CFM, CTX, AK, GEN, ETP
52B	19-10-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC	/	FOX, CTX, ETP, AK, CM, CIP, CFM, CRO, IPM
53B	22-10-2015	AD	F	URINE	EXT	FOX, CZ, CN	/	CIP, CRO, IPM, SXT, OFX, GEN, AK, ETP, CZ
54B	26-10-2015	AD	F	URINE	EXT	CTX, GEN, FOX, CN, SXT, AMC, AMX, CRO, CZ	/	IPM, AK, ETP, OFX
55B	27-10-2015	AD	F	URINE	R.E.A	AMC, AMX	/	CTX, ETP, SXT, OFX, GEN, IPM, FOX, AK, CFM, CZ, CRO, CIP
56B	02-11-2015	AD	M	URINE	EXT	CN, AMX	/	CFM, FOX, GEN, OFX, CTX, ETP, AK, IPM, SXT, CZ, CIP
57B	02-11-2015	AD	F	URINE	M.INF	CN, SXT, AMX	/	FOX, AK, ETP, GEN, CTX, OFX, CFM, IPM, CIP, CZ
58B	09-11-2015	AD	M	URINE	M.INF	CN, AMX	/	IPM, ETP, CTX, OFX, GEN, FOX, AK, CFM, CZ, CIP

Partie II : Recherche Expérimentale

59B	09-11-2015	AD	M	URINE	EXT	CN, CZ, AMX, ETP	/	CTX, OFX, GEN, FOX, AK, CFM, SXT, CIP
60B	10-11-2015	AD	F	URINE	EXT	AMX, CN	/	CFM, FOX, GEN, OFX, CZ, AK, CTX, ETP, IPM, SXT, CIP, AMX,
61B	11-11-2015	ENF	M	URINE	EXT	/	/	AK, FOX, CIP, CFM, GEN, ETP, CTX, OFX
62MJ	22-11-2015	ENF	M	URINE	EXT	E, FA, OX, AMC	/	AK, SXT, DO, CS, CIP, C, GEN, P, NA, CN
63MJ	29-11-2015	AD	F	URINE	EXT	CS, NA, OX, E	/	AK, SXT, C, P, FA, CN, DO, AMC, GEN
64MJ	29-11-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, FA, CS, OX, E	P	CN, CIP, DO, GEN, SXT, C, NA, K
65B	29-11-2015	AD	F	URINE	EXT	FOX, CFM, AMC, E, SXT, CN	OFX	IPM, CTX, ETP, GEN, AK, CIP
66MJ	30-11-2015	AD	F	URINE	EXT	E, FA, AMC, SXT, OX, CN	P	AK, GEN, C, DO, NA, CS, CS, C, P
67B	30-11-2015	AD	M	PUS	O.R.L	ETP, FOX, AMC, CN, E	/	OFX, GEN, AK, IPM, CTX, CFM, CIP, SXT
68B	01-12-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, E, CN	/	GEN, FOX, AK, TM, CTX, NOR, IPM, CFM, SXT
69B	07-12-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC	/	FOX, CZ, CFM, CTX, CIP
70B	08-12-2015	AD	F	URINE	EXT	CN, AMC, CAZ	/	GEN, CTX, AK, IPM, NOR, CIP, CFM
71B	13-12-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, AMX, E, SXT	/	FOX, GEN, CTX, AK, IPM, NOR, CIP, CRO, CFM
72B	13-12-2015	AD	F	URINE	EXT	CFM, AMC, AMX, E, CIP, SXT, CTX, FOX, NOR	/	IPM, GEN, CRO
73B	14-12-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, E	/	IPM, NOR, FOX, SXT, CM, CTX, CIP, CRO, CFM
74MJ	15-12-2015	AD	F	URINE	EXT	AMC, NA, OX, FA	/	GEN, AK, CS, CIP, C, CN, DO, P
75B	15-12-2015	AD	M	URINE	EXT	AMC, E	/	CIP, CTX, IPM, GEN, SXT, NOR, FOX, CRO, CFM,
76B	15-12-2015	AD	F	URINE	CARD	SXT, CFM, AMC, E, FOX	IPM	GM, NOR, CIP, CRO, CTX
77MJ	16-12-2015	AD	M	URINE	EXT	P, AK, C, AMC, OX, CN, DO, E, CS, SXT, NA, CIP, FA	/	/
78MJ	20-12-2015	AD	F	URINE	EXT	OX, C, SXT, FA, DO, E, AMC	P, CN	CIP, NA, AK, CS, GEN
79MJ	22-12-2015	AD	F	URINE	EXT	E, P, AMC, CL, OX, FA, NA	C	CIP, GEN, AK, DO, CS
80MJ	03-01-2016	AD	F	URINE	EXT	P, FA, AMC, OX, E, CS	/	AK, DO, SXT, CL, NA, C, CIP, GEN
81B	05-01-2016	ENF	M	PUS	EXT	SXT, CAZ, AMX, GEN	/	IPM, FOX, CTX, AK, CFM, CIP, CRO
82B (K 38)	05-01-2016	AD	M	URINE	EXT	SXT, CAZ, AMX, CS, NA	ETP	GEN, IPM, FOX, CTX, AK, CFM, CIP, CRO
83MJ	10-01-2016	AD	F	URINE	EXT	CS, SXT, NA, FA, DO, E, P, AMC, OX, CN	/	CIP, AK, GEN, C
84MJ	11-01-2016	AD	F	URINE	EXT	SXT, AMC, OX, CN, FA, C, P, CS, E	/	AK, DO, NA, GEN, CIP
85MJ	12-01-2016	AD	F	URINE	EXT	NA, DO, C, SXT, CIP, AK, GEN, CN	/	OX, P, AMC, FA, E, CS
86MJ	12-01-2016	AD	F	URINE	EXT	OX, AMC, FA, E, CS	/	DO, AN, C, SXT, D, NA, GEN, CIP, AK, CN
87B	12-01-2016	ENF	M	PUS	PED	E, GEN, SXT, AMC, CAZ	CRO	CIP, CFM, CTX, FOX, IPM, AK
88B	13-01-2016	AD	F	URINE	EXT	AMX, CAZ, AMX	/	GEN, FOX, CTX, CFM, CIP, CRO, AK, SXT
89B	21-01-2016	ENF	F	URINE	EXT	AMC, SXT	/	AK, EN, FOX, IPM, CIP, CRO, CFM, CTX
90MJ	24-01-2016	AD	F	URINE	EXT	FA, E, C, SXT, OX, AMC, P, CS, DO	/	AK, GEN, CIP, NA, CN

Partie II : Recherche Expérimentale

91MJ	25-01-2016	AD	F	P.VAG	EXT	OX, AMC, DO, E, CS, FA	P	CL, SXT, C, NA, AK, GEN, CIP
92B	27-01-2016	ENF	F	URINE	EXT	FOX, AMC, E, CZ	/	CRO, CIP, CFM, SXT, IPM, GEN, CTX
93MJ	02-02-2016	AD	F	URINE	EXT	FA, E, AMC, PT, DO	CS	P, CN, SXT, NA, AK, C
94MJ	07-02-2016	AD	F	URINE	EXT	P, CS, PT, FA, DO, AMC, OX, CN, E	C	SXT, GEN, NA, AK
95B	07-02-2016	AD	F	URINE	EXT	CRO, CFM, CTX, AN, FOX, IPM, CM, C, P, AMC, SXT	/	/
96B	07-02-2016	AD	F	URINE	EXT	AMC	/	CFM, CRO, SXT, E, FOX, AK, GEN, CTX, CIP, IPM
97MJ	09-02-2016	AD	M	URINE	EXT	AMC, OX, CN, FA, NA, DO, C, E, PT, SXT	CS, P	GEN, AK
98MJ	09-02-2016	AD	M	URINE	EXT	AMC, OX, CN, FA, C, DO, E, PT, CS, SXT	/	GEN, AK, P, AK
99B	11-02-2016	ENF	M	URINE	EXT	SXT, CIP, AMC, CAZ, CRO, CFM, TOB, CTX	/	AK, GEN, FOX
100MJ	14-02-2016	AD	F	URINE	EXT	OX, E, AMC, FA, PT	CS, P	C, SXT, AK, GEN, NA, DO, CN
101MJ	21-02-2016	AD	F	URINE	EXT	PA, P, E, CS, CF, PT, NA, SXT, AMC, AMP, K	/	GEN, TOB
102B	22-02-2016	ENF	F	URINE	EXT	AMC, SXT, CAZ	/	AK, CTX, FOX, TOB, GEN, CIP, CRO, IPM
103MJ	23-02-2016	AD	F	URINE	EXT	NA, AMC, AMP, CN, E, PT, PA, SXT	K, P, CF, TOB	GEN
104B	23-02-2016	AD	F	URINE	EXT	CFM	/	CRO, CIP, SXT, IPM, GEN, TOB, CTX, FOX, AK
105MJ	28-02-2016	ENF	F	URINE	EXT	P, PT, AMP, AMC	/	NA, TOB, CF, PA, GEN, K, CN
106MJ	29-02-2016	AD	F	URINE	EXT	PT, CF, K, AMP, AMC, CN	P	TOB, NA, GEN, PA

AD :Adulte, **AMP** :Ampicilline, **AMX** : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline+Acide Clavulanique, **AK** : Amikacine, **B** : Bordj Bou Arreridj, **CARD** : Cardiologie, **C** : Chloramphénicol, **CZ** : Céfazoline, **CIP** : Ciprofloxacine, **CRO** : Ceftriaxone, **CAZ** : Ceftazidime, **CTX** :Céfotaxime, **CFM** : Céfixime, **CF** :Cefalotine, **CN** : Céfalexine, **CS** :Colistine, **CT** : Colistine, **CM** : Clindamycine, **DO** :Doxycycline, **EXT** : Externe, **ENF** : Enfant, **E** : Érythromycine, **ETP** : Ertapénème, **F** ; Féminin, **FOX** : Céfoxitine, **FT** : Nitrofurane, **FA** : Acide Fusidique, **GEN** :Gentamycine, **GM** : Gentamycine, **HEMO** : Hémoculture, **I** : Intermédiaire, **IPM** : Imipénème, **K** :kanamycine, **M** : Masculin, **MJ** : Medjana, **M.INF** : Maladies Infectieuses, **NA** : Acide Nalidixique, **NOR** : Norfloxacine, **OX** : Oxacilline, **OFX** : Ofloxacine, **P.VAG** : Prélèvement Vaginal, **PED** : Pédiatrie, **P** : Pénicilline, **PT** : Pristinamycine, **PA** : Acide Pipédimique, **R** : Résistant, **R.E.A** : Réanimation, **S** : Sensible, **SXT** : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, **TOB** : Tobramycine, **TEC** : Téicoplanine, **VA** : Vancomycine.

2.4. Incidence de *Klebsiella* spp. isolée dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016

De Janvier 2015 à Février 2016, 106 souches de *Klebsiella* spp. ont été isolées dans l'hôpital de BBA et l'EPSP de Medjana, parmi elles 7 (6,60%) sont d'origine hospitalière et 99 (93,39%) d'origine externe (communautaire). Ces résultats ont montré qu'il y a une prédominance des souches communautaires (externes) par rapport aux souches hospitalières. Ce qui concorde avec l'étude de JAFFAR et al. (2007), qui ont montré que parmi 4101 isolats de *Klebsiella pneumoniae*, la prévalence d'isolement des espèces des

Klebsiella communautaires est 68,5% ($n = 2103$) est supérieur à la prévalence d'isolement de *Klebsiella* hospitalière ou nosocomiales avec 31,5% ($n = 967$). En revanche, nos résultats ne concorde pas avec ceux de mes collègues de Master BELDI et KHENNACHE (2015), dans l'hôpital de Mila où les espèces de *Klebsiella* étaient plus fréquemment isolée à l'hôpital qu'en communauté, avec des fréquences de 66,66% en milieu hospitalier contre 33,33% en communauté. De même nos résultats ne concordent pas avec ceux de KO et al. (2002), qui ont trouvé que parmi 455 isolats de *Klebsiella* spp. il existe 202 (44,40%) d'origine communautaire contre 253 (55,60%) d'origine hospitalière. D'autre part nos résultats sont contraires à ceux de BAUDRAND et al. (2009), aux états unis d'Amérique qui ont trouvé que les infections due à *Klebsiella* spp. sont majoritairement d'origines nosocomiales avec une prévalence mondiale homogène.

Tableau 29. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon l'origine hospitalière ou communautaire.

Souches	Nombres de souches	Pourcentage%
Hospitalières	07	6,60
Communautaires	99	93,39
Total	106	100

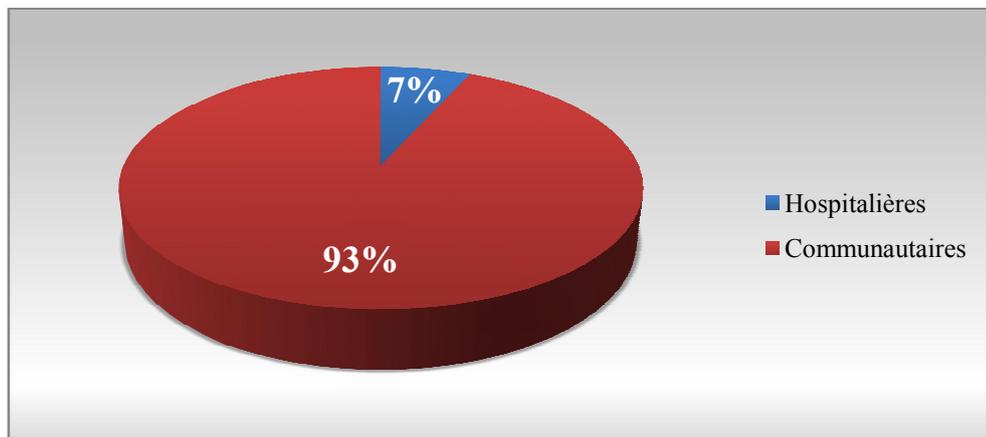


Figure 24. Incidence des souches de *Klebsiella* spp. selon leurs origines hospitalières ou communautaires dans les hôpitaux de BBA (2015-2016).

2.5. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj selon le sexe de 2015 à 2016

Parmi les 106 personnes infectées par *Klebsiella*, on compte 79 (74,52%) souches isolées chez les femmes par rapport à 29 (27,35%) hommes infectés ce qui exprime une

prédominance féminine (Tableau 29, Figure 27). Ces résultats concordent typiquement avec les résultats de nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila, qui ont trouvé que 30 (72%) malades infectés par *Klebsiella* ont été des femmes contre 28% d'hommes. Aussi nos résultats sont en agrément avec ceux de SAELY et al. (2011), qui ont trouvé que 53,97% (92 souches) isolées chez les femmes et 46,02% (81 souches) isolées chez les hommes. De même, nos résultats concordent bien avec ceux de BELBEL (2014), dans les hôpitaux de la ville d'Annaba, qui a trouvé que parmi 100 patients infectés par *K. pneumoniae*, 54% ont été des femmes contre 46% sont des hommes. Par contre, PATERSON et al. (2004), ont trouvé que parmi 244 souches de *Klebsiella pneumoniae* isolés dans 12 hôpital en Afrique de sud, Taiwan, Australie, argentine, les états unis, Belgique et Turquie; l'incidence de *Klebsiella pneumoniae* chez les hommes (148 = 60,7%) est supérieur à celle chez les femmes (96 = 39,3%). D'après FUNG et al. (2012), sur un total de 43 isolats de *Klebsiella pneumonie* à TAIWAN ont montré une supériorité des isolements chez les hommes (25 = 58,13%) par rapport aux isolements chez les femmes (18 = 41,86%) ce qui est en désaccord avec nos résultats. LINARES et al. (2010), ont aussi trouvé un résultat contraire avec 64% (675) chez les hommes et 36% (382) des isolats fait chez femmes. D'autre part, l'étude d'ORTEGA et al. (2011), faite dans l'hôpital clinique de Barcelone en Espagne ont montré une supériorité d'isolement chez les hommes avec 55% (498 souches) et 45% (412 souches) chez les femmes. La prévalence des infections bactériennes par des souches y compris *Klebsiella* spp. chez les femmes est liée à plusieurs facteurs tels l'anatomie où l'urètre plus court favorise la contamination de la vessie par les germes provenant du rectum ou du vagin, des règles d'hygiène mal respectées, et la grossesse. Chez les hommes les infections dues à *Klebsiella* sont liées à des facteurs tels une hypertrophie de la prostate, des troubles de la miction, des coliques néphrétiques (ANONYME 7, 2016).

Tableau 30. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon le sexe.

Sexe	Nombre des souches	Pourcentage %
Femmes	79	74,52
Hommes	29	27,35
Total	106	100

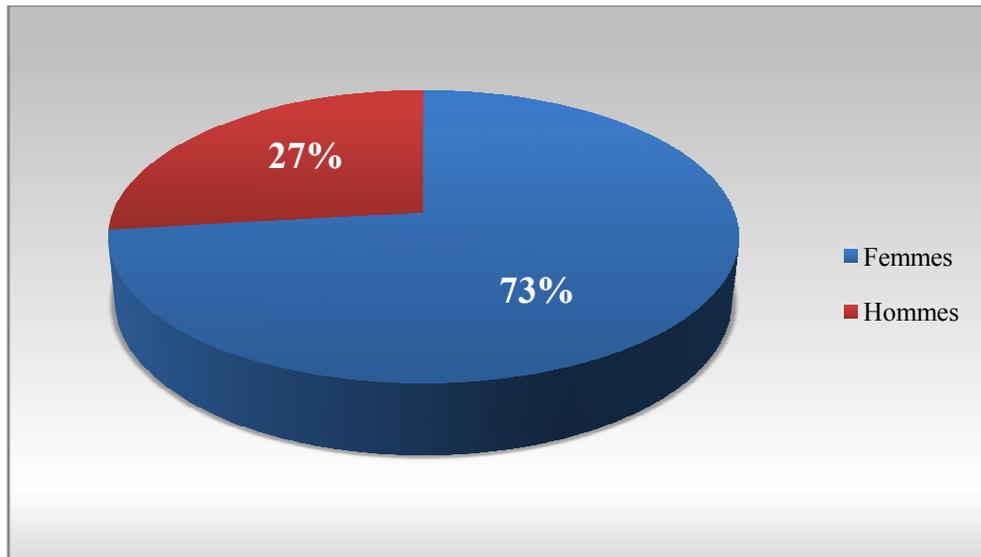


Figure 25. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon le sexe.

2.6. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj selon la nature du prélèvement de 2015 à 2016

Sur 106 souches de *Klebsiella* isolées, le nombre de prélèvement le plus important est observé dans les urines avec 96 souches (90,56%), 7 (6,60%) dans les prélèvements de pus, le taux le plus faible est remarqué dans les prélèvements vaginaux avec une fréquence de 1,88% (2 souches) et l'hémoculture avec une fréquence de 0,94% (1 souche). Nos résultats sont très proches de ceux obtenus par nos collègues de Master 2015 dans l'hôpital de Mila où les prélèvements urinaires étaient dominants (50%) suivi par les prélèvements de pus avec une fréquence de 20% et les prélèvements vaginaux de 10%. Les espèces de *Klebsiella* sont essentiellement isolées d'infections urinaires chez les deux sexes, l'étude de BEN REDJEB et BOUTIBA BEN BOUBAKER (2007), confirme les taux d'isolements de *Klebsiella pneumoniae* élevées dans les prélèvements urinaire durant 4 années avec 66% (2004), 65,4% (2005), 59,60% (2006) et 60,90% (2007). Dans les autres prélèvements ils ont enregistré des taux d'isolement dans le pus de 11,80% (2004), 11,40% (2005), 11,80% (2006) et 11,90% (2007) ; dans l'hémoculture ils ont enregistré 15,60% (2004), 15,90% (2005), 18,70% (2006) et 17,40% (2007). D'autre part, ils n'ont signalé aucun isolement dans des prélèvements vaginaux. Si on compare ces résultats avec ceux de notre étude, on trouve qu'il ya une concordance entre les taux d'isolements dans les prélèvements urinaires, une proche similarité entre les taux d'isolements dans le pus, mais une différence par rapport aux hémocultures. BELBEL (2014), a montré que la plus grande

prévalence d'isolement de *Klebsiella* est observée dans les urines par un taux de 37% (37 souches), suivie par le pus 25% (25 souches) et 18 souches (18%) dans les hémocultures. Cependant, dans l'étude de SEKHRI (2011) à Constantine, parmi 170 souches, 79 (46,47%) ont été enregistré dans le pus, 51(30%) dans les hémocultures et 40 (23,53%) dans les urines ce qui incompatible avec nos résultats. EL FERTAS-AISSANI et al. (2013), ont rapporté que parmi 54 isolats, 26 ont été enregistré dans les urines, 11 dans le pus, 11 dans les hémocultures, 4 dans les sécrétions pulmonaires, 1 dans le liquide cébrospinal et 1 dans la fluide ascite, si on compare ces résultats avec celles de la présente étude on trouve qu'il y a une concordance des taux dans les prélèvements urinaires et dans le pus, mais une incompatibilité avec les autres prélèvements.

Klebsiella spp est majoritairement présentes dans les urines parce qu'elle est considérée comme une partie normale du tractus intestinal et une fois elle trouve son chemin dans le tractus intestinal dans le système urinaire, elle commence à se multiplier en causant des douleurs et des irritations. Il ya plusieurs façons pour les bactéries de pénétrer à l'intérieur de l'appareil urinaire. Les patients peuvent être infectés par le biais des rapports sexuels réguliers parce que l'urètre est si proche de la région anale, les femmes enceintes sont particulièrement sujettes aux infections urinaires, car un utérus agrandi bloquant le passage urinaire pourrait empêcher l'urine d'être vidée de la vessie. L'urine est assise dans la vessie, fournissant un terrain fertile pour *Klebsiella* et l'infection (ANONYME 8, 2016).

Tableau 31. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon la nature du prélèvement.

Nature du prélèvement	Nombres de souches	Pourcentage %
Urine	96	90,56
Pus	7	6,60
Vagin	2	1,88
Hémoculture	1	0,94
Total	106	100

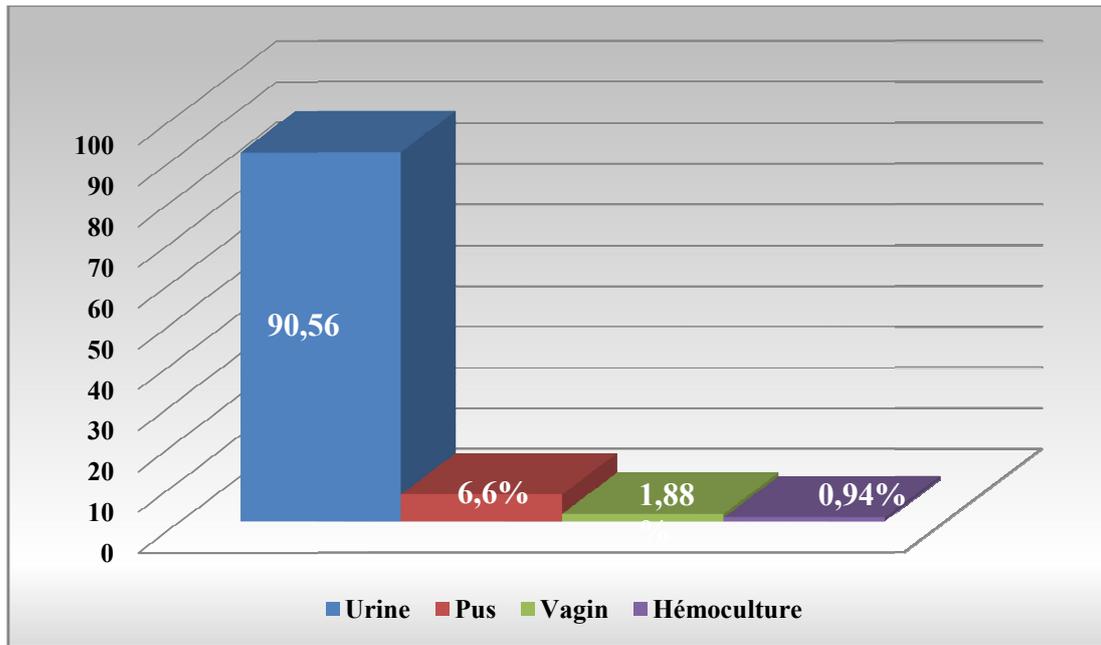


Figure 26. Incidence de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de Bordj Bou Arreridj de 2015 à 2016 selon la nature de prélèvement.

2.7. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de BBA de janvier 2015 à février 2016.

Tableau 32. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de BBA en Algérie de janvier 2015 à février 2016.

Familles	β-lactamines								Aminosides		Macrolides	Quinolones		Sulfamides	Polypeptides	Autres
Antibiotiques	AMX	AMC	OX	CZ	CTX	IPM	ETP	CFM	GEN	AN	E	NA	CIP	SXT	CS	FA
% de Résistance	69,44 : 25 / (36)	88,88 : 72 / (81)	97,87 : 46 / (47)	40 : 22 / (55)	19,23 : 15 / (78)	2,27 : 1 / (44)	14,28 : 2 / (14)	27,27 : 12 / (44)	1,42 : 1 / (70)	7,36 : 7 / (95)	96,72 : 59 / (61)	31,48 : 17 / (54)	11,29 : 7 / (62)	40,65 : 37 / (91)	41,30 : 19 / (46)	95,83 : 46 / (48)

AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, OX : Oxacilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, ETP : Ertapénème, CFM : Céfixime, GEN : Gentamycine, AN : Amikacine, E : Érythromycine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, SXT : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, FA : Acide Fusidique.

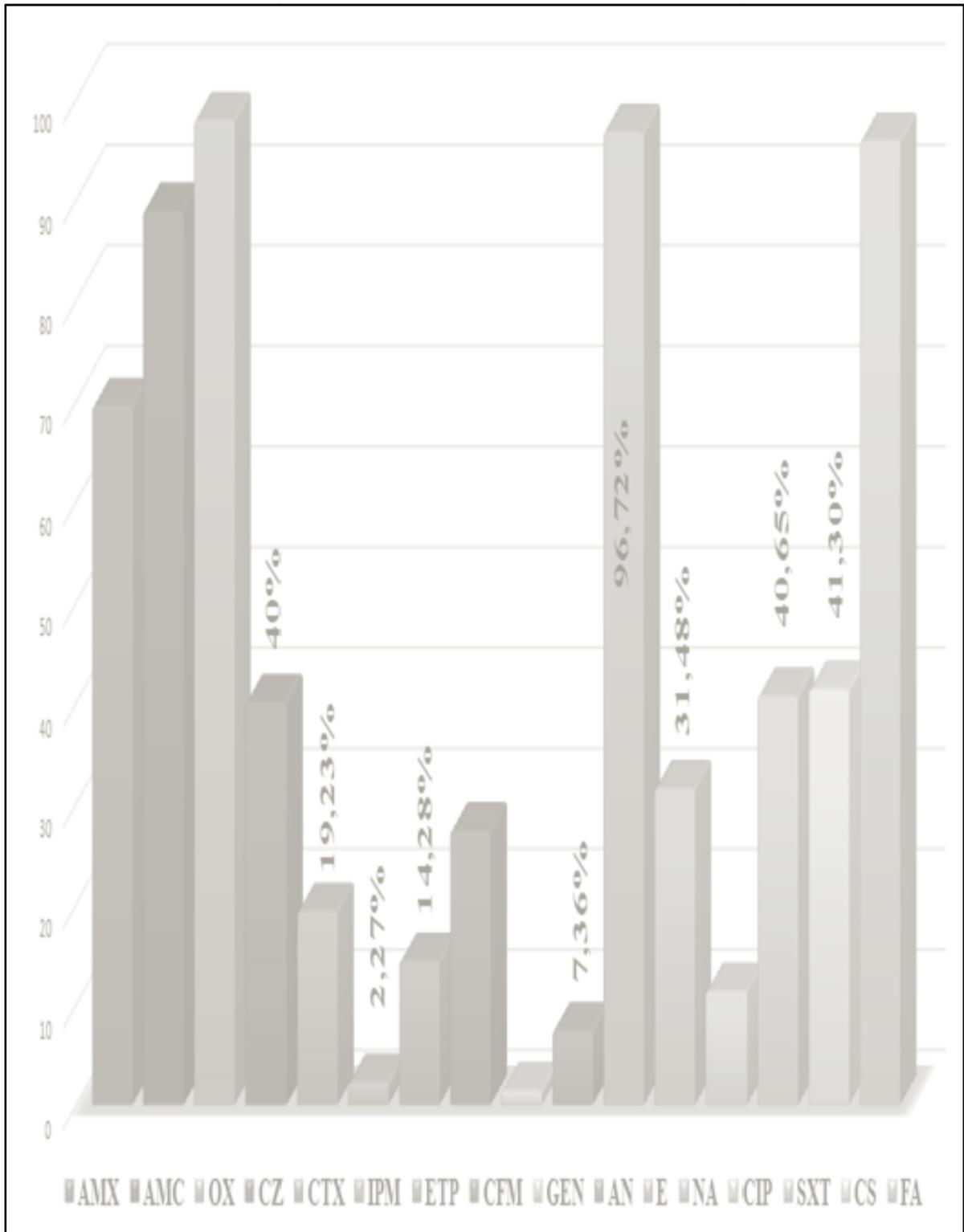


Figure 25: Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de BBA en Algérie de janvier 2015 à février 2016.

AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, OX : Oxacilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, ETP : Ertapénème, CFM : Céfixime, GEN : Gentamycine, AN : Amikacine, E : Érythromycine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, CS : Colistine, SXT : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, FA : Acide Fusidique.

La résistance aux bêtalactamines

Pour la résistance aux antibiotiques au sein de la famille des bêtalactamines à partir du janvier 2015 jusqu'à février 2016 dans les hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Bordj, on a enregistré des taux élevés pour l'Oxacilline qui reste fortement inactive contre *Klebsiella* par un taux de résistance de 97,87%, pour l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique 88,88%, et l'Amoxicilline qui est presque inactive avec un taux de 69,44%. En effet, *Klebsiella pneumoniae* présente une résistance naturelle à Ampicilline et à Ticarcilline l'Amoxicilline par production d'une β -lactamases chromosomique naturelle, la pénicillinase de bas niveau de type SHV-1 inhibée par l'Acide Clavulanique et le Tazobactam. De même. Pour le Céfazoline on a constaté un taux de résistance de 40%.

Néanmoins, on a remarqué de faibles résistances pour le Céfixime avec 27,27%, le Céfotaxime avec 19,23%, l'Ertapénème avec 14,28%. Quand à l'Imipénème, elle possède une bonne activité contre *Klebsiella* enregistrant le taux le plus faible de résistance avec 2,27%. Ces données nous alertent de la grande ampleur de la résistance aux antibiotiques de classe des pénicillines suivies par la classe des céphalosporines y compris toutes ces générations, puis la classe des carbapénèmes.

Le taux élevé de résistance à l'Amoxicilline est confirmé par plusieurs études qui ont trouvé que cet antibiotique n'est pas efficace vis-à-vis les espèces de *Klebsiella*. Dans l'étude de HASSAINE (2013), les 14 souches isolées de *Klebsiella pneumoniae* dans le service de médecine interne et le service de traumatologie dans le CHU de Tlemcen étaient totalement résistantes à l'Amoxicilline (100%) ce qui est proche à nos résultats dans la wilaya de BBA, où on a enregistré 69,44% résistance pour AMX. De même, SECK (2005) a déclaré un taux de résistance à l'Amoxicilline de 100% pour 44 souches de *K. pneumoniae* isolées des infections urinaires. Les souches de *Klebsiella* sont naturellement résistantes aux amino-pénicillines d'où provient le phénotype de résistance à l'amoxicilline.

En ce qui concerne la résistance à l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique connue sous le nom d'Augmentin, on a enregistré un taux de résistance de 88,88% ce qui concorde avec les résultats de BELBEL (2014), qui a enregistré un taux de résistance de 78% pendant deux ans d'étude (2010-2011) dans l'hôpital d'Annaba.

PATERSON et al. (2004), ont enregistré un taux de résistance de 14,3% pour les souches productrices des BLSE, tandis qu'ils ont trouvé que 85,7% des souches non productrices des BLSE sont résistant à cette association.

De même OUAKHZAN (2011), rapporté une résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique de 64,64% sur 347 souches de *K. pneumoniae* isolées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V au Maroc. D'autre part SOUNA (2011), a enregistré une fréquence de résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique de *Klebsiella* au niveau du CHU de Sidi Bel Abbas égal à 90% ce qui est très proche à nos résultats. Par contre les résultats d'étude de TLAMÇANI et al. (2009), ont montré un taux de résistance à l'Amoxicilline/Acide Clavulanique de 50% dans l'hôpital des spécialités de Rabat (Maroc) ce qui est inférieur à nos résultats. Aussi contrairement à nos résultats EJIKEUGWU et al. (2012), ont déclaré que parmi 39 *K. pneumoniae* collectées à partir d'un hôpital Nigérian, 15,4% étaient résistantes à l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique.

Pour la résistance des espèces de *Klebsiella* à l'Oxacilline, le retrait récemment du marché pharmaceutique de cet antibiotique peut être confirmé par les taux de résistance élevés et l'inefficacité prouvée vis-à-vis plusieurs souches bactériennes y compris toutes les espèces de *Klebsiella*. La fréquence de résistance à l'oxacilline dans notre étude est 97,87% ce qui est fortement compatible avec les résultats déclarés par GHERASSI et al. (2014), dans la wilaya de Mila où ils ont trouvé que 95% des souches isolées sont résistantes à l'Oxacilline.

Pour la résistance aux Céphalosporines, on a enregistré des taux différents dans chaque génération. Pour le Céfazoline qui appartient aux C1G on a enregistré que 40% des isolats sont résistants ce qui est proche des résultats de SARATHBABU et al. (2012), en Inde qui ont déclaré que parmi 254 souches de *K. pneumoniae* isolé à partir des prélèvements urinaires, 130 sont résistantes à Céfazoline avec 51,18%. D'autre part, nos résultats sont incompatibles avec ceux de SEKHRI (2011), qui a enregistré un taux de résistance de 73,07%, aussi l'étude de LABID (2015), à Annaba en Algérie a observé une résistance de 87,5%.

Pour les fréquences de résistance aux C3G, on a enregistré 19,23% des isolats résistants au Céfotaxime (CTX). Ce niveau de résistance concorde bien avec celui de BEN HAJ KHALIFA et KHEDER (2012), en Tunisie, qui ont trouvé parmi 198 isolats de *Klebsiella*

pneumoniae, la résistance aux Céfotaxime est de 22,7%. De même, ORTEGA et al (2011), ont enregistré parmi 910 isolats de *Klebsiella pneumoniae*, seulement 122 (12%) résistantes au Céfotaxime ce qui est proches a nos résultats. Par ailleurs, nos résultats différents de ceux de SEKHRI (2011), qui a trouvé une fréquence de résistance au CTX plus élevée de 61,76%.

Pour la fréquence d'antibiorésistance spécifique aux C4G on a enregistré un taux de résistance au Céfépime de 27,27%. Ce qui est typiquement différent des résultats de LABID (2015), qui a trouvé que 83,33% des isolats sont résistants à cet antibiotique, et l'étude de SOUNA (2011) avec une fréquence de résistance au CFM de 80%. Aussi, le cas de l'étude de (BAROUD et al., 2013), qui ont trouvé que 80% des souches isolées dans l'Université américaine du centre médical de BEYROUTH au Liban ont le phénotype CFM-resistant.

Toujours dans la famille de bêtalactamines pour l'Ertapénème de la famille des carbapénèmes, on a trouvé une fréquence de résistance équivalente à 14,28% ce qui est compatible avec les résultats de WANG el al. (2013), qui ont trouvé que parmi 25 souches de *K. pneumonie* isolée chez des patients hospitalisés aux états unis d'Amérique, seulement 8 % étaient résistantes à l'Ertapénème. Par contre, le présent résultat est en désagrément avec celui de BAROUD et al. (2013), au Liban qui ont trouvé que seulement 2,45% (14/572) des isolats étaient résistantes a l'Ertapénème.

Pour l'autre représentant de la famille des carbapenemes qui est l'Imipénème, on a enregistré un taux d'antibiorésistance équivalent à 2,27%, qui est très proche au résultat de TLAMÇANI et al. (2009) au Maroc, qui n'ont trouvé aucune souche résistante à l'Imipénème. Aussi les résultats de BEN HAJ KHALIFA et KHEDHER (2012) en Tunisie, ont déclaré l'absence totale des souches résistantes à l'Imipénème. Ce qui peut donner l'espoir aux personnes infectées par des germes multirésistantes afin de guérir. Par contre, nos résultats ne concordent pas à ceux de FRED et al. (2006), qui ont remarqué que 86,66% des isolats de *K. pneumoniae* sont résistantes à l'Imipénème. Aussi, GIANI et al. (2013), en Italie, ont enregistré un taux de résistance très important à l'Imipénème de 83%.

La résistance aux Aminosides

En ce qui concerne l'état d'antibiorésistance à la famille des aminosides dans les hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj depuis janvier 2015 jusqu'à février 2016, on a

enregistré de faibles fréquences de résistance dont la plus importante est pour l'Amikacine (7,36%) suivi par le Gentamycine (1,42%). Ces résultats concordent bien avec ceux de JAFFAR et al. (2007) en Arabie Saoudite, qui ont déclaré que pour les isolats externes la résistance au Gentamycine est de 2% tandis que pour les isolats nosocomiaux elle est de 6%. Pour l'Amikacine ils ont enregistré parmi 93 isolats seulement 2 (2%) étaient résistants. Par ailleurs, pour les isolats nosocomiaux ils ont enregistré que parmi 285 isolats, seulement 12 (4,2%) étaient résistants.

Par contre nos résultats ne concordent pas avec ceux de WANG et al. (2013) aux États Unis d'Amérique, qui ont enregistré des taux de résistance élevés pour le Gentamycine (68%) et pour l'Amikacine (25%). Aussi, ils ne sont pas compatibles avec les résultats de SHAHID et al. (2008) en Inde, qui ont trouvé dans les prélèvements urinaire des taux de résistance pour la famille des aminosides élevés (Gentamycine = 45,50% et Amikacine = 54,50%), et le même cas dans le pus où ils ont trouvé des taux plus élevés (Gentamycine = 30,80% et Amikacine = 35,90%). D'autre part, KABBAJ et al. (2012), ont trouvé que parmi 25 souches isolés il y a 6 (24%) souches qui sont résistantes a la Gentamycine et aussi parmi ces 25 souches il y a 24 (96%) souches résistantes a l'Amikacine. D'autre part, l'étude d'OUAKHZAN (2011), a révélé des fréquences de résistance aux Gentamycine et Amikacine moyennement élevés (GEN = 30,25%, AK = 15,25%). Dans une autre étude réalisée par LABID (2015), les taux étaient très élevés pour les deux antibiotiques (GEN = 83,33% et AK = 79,16%).

La résistance aux macrolides

Pour la résistance a l'Erythromycine, on a enregistré une fréquence très élevée de 96,72%. Ce résultat est troublant en ce qui concerne la situation de résistance de *Klebsiella* vis-à-vis la famille des macrolides. Ce taux de résistance sont compatibles avec ceux de mes collègues de Master 2015 où ils ont enregistré 87,50% des souches résistantes a l'érythromycine dans l'hôpital de MILA. Une autre étude faite par BOKAEIAN et al (2014), dans l'hôpital de Mir a Iran montré que 70% des souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à l'Érythromycine. Selon SECK R (2005), un caractère distinctif des bacilles a gram négatif y compris tous les espèces de *Klebsiella* est la résistance spontanée aux macrolides et apparentées.

La résistance aux quinolones

Concernant la situation de la résistance de *Klebsiella* spp. aux quinolones, on a enregistré le plus grande fréquence pour l'Acide Nalidixique avec 31,48% suivi par le Ciprofloxacine avec 11,29%. L'étude de DIALLO (2010) au Mali, a déclaré un nombre de 6 souches de *Klebsiella pneumoniae* parmi 33 isolats résistant pour (6,07%) ce qui est proche des présents résultats.

LABID (2015) à Annaba en Algérie, a trouvé une fréquence de résistance à l'Acide Nalidixique de 41,66%, ce qui est proche à nos résultats. Mais pour le Ciprofloxacine, elle a trouvé que 37,50% des souches étaient résistantes. L'étude de BEN HAJ KHALIFA ET KHEDHER (2012), à l'hôpital universitaire de Mahdia en Tunisie, a déclaré que parmi 40 souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices des BLSE, 67,50% sont résistants au Ciprofloxacine et 80% pour l'Acide Nalidixique.

L'étude de SHIBL et al. (2013) en Arabie saoudite, a déclaré un taux de résistance très élevés pour le Ciprofloxacine de 100% ce qui est plus élevé de nos résultats.

Dans leur étude sur les mécanismes de résistance aux carbapénèmes au Liban, BAROUD et al. (2013), ont rapporté une fréquence de résistance au Ciprofloxacine de 86,66%. Par ailleurs, KUMAR (2013), en Inde a enregistré un taux de résistance à l'Acide Nalidixique très élevé pour *K. pneumoniae* avec 71,7 %.

La résistance aux quinolones y compris le Ciprofloxacine et l'Acide Nalidixique est médiée par la présence des gènes de résistance spécialisée *qnr* et *aac (6)-Ib-cr* KARAH et al. (2010). D'après SECK (2005), la résistance aux quinolones est toujours d'une origine chromosomique.

La résistance aux sulfamides

A l'égard de l'état de résistance aux sulfamides dans les hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, on a enregistré des taux de résistance à l'association SXT (Triméthoprime/Sulfaméthoxazole) ou autrement COT (du nom COTRIMOXAZOLE dans le marché pharmaceutique) de 40,6%. L'étude de BEN HAJ KHALIF et KHEDHER (2010), a montré pour les isolats BLSE, que parmi 40 souches il y a 0% résistant à SXT et pour les 158 isolats non BLSE, il y a 36,30% de résistance au SXT. De même, l'étude de

TLAMÇANI et al. (2009), a déclaré un taux de résistance à l'association SXT de 28% ce qui est pratiquement proche a nos résultats.

JAFFAR et al. (2007) en Arabie saoudite, ont affirmé un taux de résistance à l'association SXT de 11% pour les isolats communautaires, tandis que 15% étaient pour les isolats nosocomiaux.

Par contre, les études de BAROUD et al. (2013) au Liban, WANG et al. (2013) aux États Unis et LABID (2015) en Algérie, ont montré des résultats plus élevée par rapport au présent travail, ils ont trouvé respectivement : 90,90%, 96%, 62,50% de résistance a SXT. Aussi DIALLO (2010), a affirmé différents taux de résistance pour le Cotrimoxazole selon les espèces dont la plus élevées était pour *Klebsiella ozaenae* avec 100%, suivi par *K. pneumoniae* avec 90,90% puis par *Klebsiella oxytoca* avec 66,67%, tandis qu'aucune souche de *Klebsiella ornitholytica* n'était résistante a cet antibiotique.

La résistance aux polypeptides

Pour la résistance aux polypeptides, une fréquence de résistance de 41,30% est enregistrée pour la Colistine, elle paraît nettement supérieure à celle rapportée dans l'étude de WANG et al. (2013) dans un hôpital aux États Unis d'Amérique, qui ont signalé 4,5% de résistance à la Colistine. De même, elle est supérieure à la fréquence enregistrée par PAGANO et al. (2014) en Italie, qui ont déclaré que 19% des souches sont résistantes à Colistine.

Contrairement, l'étude de KABBAJ et al. (2012), a affirmé que tous les 25 isolats étaient résistants à Colistine (R = 100%).

La résistance aux autres antibiotiques

Concernant la résistance aux autres familles des antibiotiques, on a enregistré une fréquence de résistance à l'acide fusidique de 95,83%.

Une étude de 4 mois pour 300 isolats de *Klebsiella pneumoniae* provenant de divers prélèvements (100 des prélèvements urinaires, 100 dans les hémocultures et 100 dans les expectorations pulmonaires), a été réalisée par ROMANUS et al. (2009), qui ont obtenu une fréquence de résistance à l'acide fusidique de 90,9%, ce qui est fortement compatible avec nos résultats.

2.8. Analyse spatiale de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* selon la nature du prélèvement : AFC

L'Analyse Factorielle de Correspondances (AFC) est une analyse statistique qui permet d'étudier l'association entre deux variables qualitatives (dans notre cas les deux variables sont les types de prélèvements et les antibiotiques) (ANONYME 9, 2016).

Tableau 33. Antibiorésistance totale de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de la wilaya de BBA de 2014 à février 2016, selon la nature du prélèvement.

Familles	Antibiotique	% Résistance				Total
		Urine (n=96)	Vagin (n=2)	Pus (n=7)	Hémo (n=1)	
β-lactamines	AMX	68 :24/(35)	0 :0/(0)	100 :1/(1)	0 :0/(0)	69,44 :25/(36)
	AMC	90 :65/(72)	50 :1/(2)	83 :5/(6)	100 :1/(1)	88,88 :72/(81)
	OX	97 :44/(45)	100 :1/(1)	100 :1/(1)	0 :0/(0)	97,87 :46/(47)
	CZ	38 :19/(50)	100 :1/(1)	33 :1/(3)	100 :1/(1)	40 :22/(55)
	CTX	15 :11/(70)	100 :1/(1)	33 :2/(6)	100 :1/(1)	19,23 :15/(78)
	IPM	2 :11/(37)	0 :0/(1)	0 :0/(5)	0 :0/(1)	2,27 : 1/(44)
	ETP	7 :1/(13)	0 :0/(0)	100 :1/(1)	0 :0/(0)	14,28 : 2/(14)
	CFM	25 :10/(39)	0 :0/(0)	40 :2/(5)	0 :0/(0)	27,27 : 12/(44)
Aminosides	AN	6 :6/(89)	0 :0/(1)	20 :1/(5)	0 :0/(0)	7,36 :7/(95)
	GEN	9 :6/(61)	50 :1/(2)	33 :2/(6)	100 :1/(1)	1,42 :1/(70)
Macrolides	E	96 :56/(58)	100 :1/(1)	100 :2/(2)	0 :0/(0)	96,72 :59/(61)
Quinolones	NA	32 :16/(50)	0 :0/(2)	0 :0/(1)	100 :1/(1)	31,48 :17/(54)
	CIP	9 :5/(53)	0 :0/(2)	16 :1/(6)	100 :1/(1)	11,29 :7/(62)
Sulfamides	SXT	39 :33/(83)	50 :1/(2)	60 :3/(5)	0 :0/(1)	40,65 :37/(91)
Polypeptides	CS	40 :18/(45)	100 :1/(1)	0 :0/(0)	0 :0/(0)	41,30 :19/(46)
Autres	FA	95 :43/(45)	100 :1/(1)	100 :2/(2)	0 :0/(0)	95,83 :46/(48)

Hémo : Hémo-culture, **AMX** : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline/Acide Clavulanique, **OX** : Oxacilline, **CZ** : Céfazoline, **CTX** : Céfotaxime ; **IMP** : Imipénème, **ETP** : Ertapénème, **CS** : Colistine, **CFM** : Céfixime, **GEN** : Gentamycine **AN** : Amikacine, **E** : Érythromycine, **NA** : Acide Nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **FA** : Acide Fusidique, **SXT** : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole.

Tableau 34. Résistance pour 16 antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolée des hôpitaux de la wilaya de Bordj Bou Arreridj de 2015 à février 2016, selon la nature du prélèvement (tableau pour AFC).

Familles	antibiotique	Urine (n=96)	Pus (n=7)	Vagin (n=2)	Sang (n=1)
B-Lactamines	AMX	0,68	1	0	0
	AMC	0,90	0,83	0,50	1
	OX	0,97	1	1	0
	CZ	0,38	0,33	1	1
	CTX	0,15	0,30	1	1
	IPM	0,02	0	0	0
	ETP	0,07	1	0	0
	CFM	0,25	0,40	0	0
Macrolides	E	0,96	1	1	0
Aminosides	GEN	0,09	0,33	0,50	1
	AN	0,06	0,20	0	0
Quinolones	NA	0,32	0	0	1
	CIP	0,09	0,16	0	1
Sulfamides	SXT	0,39	0,60	0,50	0
Polypeptides	CS	0,40	0	1	0
Autres	FA	0,95	1	1	0

AMX : Amoxicilline, AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique, OX : Oxacilline, CZ : Céfazoline, CTX : Céfotaxime, IMP : Imipénème, ETP : Ertapénème, CFM : Céfixime, E : Erythromycine, GEN : Gentamycine, AN : Amikacine, NA : Acide Nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, CS : colistine, FA : Acide Fusidique.

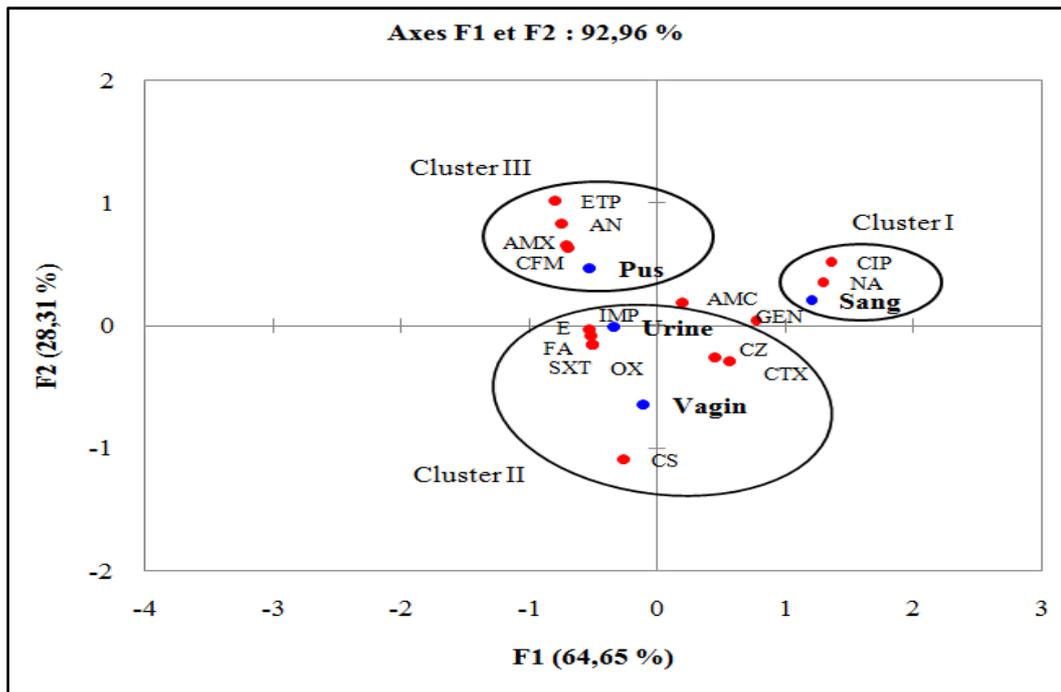


Figure 28. Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) des phénotypes de résistance aux antibiotiques de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées dans les hôpitaux de BBA. Le graphique est généré en utilisant le logiciel Xlstat 2014.

Dans l'analyse factorielle des correspondances, 3 Clusters principaux sont remarqués, regroupant les natures de prélèvements et les phénotypes de résistance aux antibiotiques.

Le Cluster I, situé au Nord-est du graphique regroupe les prélèvements sanguins (hémoculture) avec le profil de résistance aux antibiotiques composé de l'Acide Nalidixique et Ciprofloxacine de la famille des quinolones.

Le Cluster II, situé au sud de graphique regroupe deux types de prélèvements qui sont les urines et les prélèvements vaginaux avec les profils de résistance composé de Colistine, Oxacilline, Imipénème, Erythromycine, Acide Fusidique, Cotrimoxazole, Céfazoline et Céfotaxime. Le Colistine se situe à côté du vagin ; le Cotrimoxazole, l'Érythromycine, l'Acide Fusidique, l'Imipénème et l'Oxacilline à côté de l'urine, et le Céfazoline avec le Céfotaxime sont en situation intermédiaire entre les deux prélèvements.

Le Cluster III, regroupe le pus avec un profil de résistance fait de l'Amikacine, l'Ertapénème, l'Amoxicilline et le Céfépime.

Cependant, les deux antibiotiques Amoxicilline/Acide Clavulanique (AMC) et Gentamycine (GEN) sont situés approximativement au centre du graphique à une distance proche des trois Clusters.

Profil de résistance aux antibiotiques dans le sang : Cluster I

Le profil de la résistance aux antibiotiques du Cluster I associé à l'hémoculture est l'Acide Nalidixique et le Ciprofloxacine. Par contre, l'Ertapénème, l'Amikacine, l'Amoxicilline, le Céfépime, l'Imipénème, l'Érythromycine, l'Acide Fusidique, le Cotrimoxazole, l'Oxacilline, le Colistine, le Céfazoline et le Céfotaxime ont montré des taux de résistance faibles (Tableau33 et Figure 26) et étaient loin d'hémoculture. Il est a noté que l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique et Gentamycine ont une distribution spatiale proche de l'hémoculture et même des autre prélèvements dans la présente AFC.

Au contraire, MAÏGA et al. (2004) à l'hôpital du point G au Mali, ont rapporté que les isolats de *Klebsiella* provenant des hémocultures ont une résistance faible à l'Acide Nalidixique de 7%, 11% pour *Klebsiella oxytoca*. Dans le présent travail la résistance pour 100% pour l'Amikacine. Il est a noté d'une manière générale que les bactériémies due à *Klebsiella pneumoniae* sont rarissime.

D'autre part, l'étude d'ARIFFIN et al. (1999) faite dans l'unité d'oncologie pédiatrique à l'hôpital universitaire de Kuala-Lumpur en Malaisie, ont affirmé que 4 souches de *Klebsiella pneumoniae* (13%) parmi 31 mise en test de résistance au Ciprofloxacine étaient résistantes, ce taux faible est contraire au présent résultat où il a été trouvé une fréquence de 100% pour Ciprofloxacine.

L'étude de MOSQUEDA-GOMEZ et al. (2008), dans un hôpital au Mexique a prouvé que les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hémocultures ont une faible résistance aux quinolones (représentés par le Ciprofloxacine) égal à 8,7% chez des patients qui ont une bactériémie due à *Klebsiella pneumoniae*.

WU et al. (2009), dans l'hôpital universitaire à Taiwan et l'hôpital universitaire de Cheng a Taiwan, ont déclaré que les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées chez des patients avec des bactériémies (hémoculture) sont peu résistantes aux 2 représentants de la famille des quinolones l'acide nalidixique et le Ciprofloxacine.

La comparaison du profil de résistance du sang par rapport aux autre études dans le monde montre clairement que la résistance aux quinolones dans le sang, à Bordj Bou Arreridj en Algérie, est très élevée et de ce fait elle est grave, ce ci malgré l'incidence faible de la bactériémie observée de 1 souche.

Profil de résistance aux antibiotiques dans l'urine et le vagin : Cluster II

Le profil de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. du Cluster II associé à deux types de prélèvements (prélèvements urinaires et vaginaux) est la colistine a coté du vagin, l'Imipénème, l'Érythromycine, l'Acide Fusidique, Triméthoprine/Sulfaméthoxazole et l'Oxacilline prêts de l'urine, entre les deux prélèvements on trouve le Céfazoline et le Céfotaxime (Tableau33 et Figure 26). D'autre part, le Ciprofloxacine, l'Acide Nalidixique, l'Ertapénème, l'Amikacine, l'amoxicilline et le Céfépime ont montré des taux de résistance faibles et étaient loin de l'urine et du vagin. Il est a noté que Amoxicilline+Acide Clavulanique et Gentamycine ont une distribution spatiale proche intermédiaire par rapport à l'urine et le vagin et même des autre prélèvements.

BEN HAJ KHALIF et KHEDHER (2010), ont fait le point sur la fréquence de la resistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella* uropathogenes productrices de β -lactamases à spectre élargi isolées chez des patients consultants et hospitalisés à l'hôpital universitaire de Mahdia en Tunisie. Ils ont remarqué des résultats similaires pour l'Imipénème, le Céfotaxime et le Cotrimoxazole avec des taux d'antibiorésistance de 0 %, 17 % et 36,3 % respectivement. Dans le présent travail la résistance à ces antibiotiques est de 2 %, 15 % et 39% respectivement (Tableau AFC). Cependant, ils ont observé pour le Ciprofloxacine, l'Acide Nalidixique et l'Amikacine de 15,2%, 44,2% et 1% respectivement.

PARISI et al. (2015), à l'Hôpital de Padoue en Italie, ont affirmé que parmi les 496 isolats de *K. pneumoniae* produisant carbapénemases (CpKP) collectées, seulement 2 (0,40%) souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à la Colistine dans le vagin, ce qui est en désagrément avec nos résultats ou on a enregistré 100 %.

En agrément avec les présents résultats, BEN REDJEB et BOUTIBA BEN BOUBAKER (2007) en Tunisie, ont trouvé des taux d'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae* isolées des urines pour le Triméthoprine/Sulfaméthoxazole et l'Imipénème de 44% et 0% respectivement. Par ailleurs, pour les autres antibiotiques ils ont trouvé pour l'Acide Nalidixique un taux de 31,48% ce qui est très proche de nos résultats. Aussi SECK (2005) à Dakar au Sénégal, a affirmé que les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les prélèvements urinaires sont résistantes à l'Imipénème avec un taux de 0% et pour le Céfotaxime de 4,8%. L'étude de BOKAEIAN et al. (2014) en Iran, a affirmé que les souches de *Klebsiella pneumonie* isolées dans les urines sont majoritairement résistants a

l'Erythromycine avec un taux de 70% ce qui concorde au taux élevé observé dans la présente étude avec 96 % (Tableau 34).

MA et al. (2009), ont trouvé que parmi 235 isolats de *Klebsiella pneumoniae* provenant des urines, seulement 2 (0,8%) sont résistants à l'Imipénème ce qui confirme encore la présente étude. Par contre, ils ont trouvé des taux différents pour le Cotrimoxazole, le Céfazoline et le Céfotaxime avec 91,50%, 100% et 62,10% respectivement.

WANG et al. (2013) à New York ont trouvé que les isolats de *Klebsiella pneumoniae* ont une fréquence de résistance à l'imipénème un peu plus élevée de 8%. Contrairement, ils ont trouvé des taux de résistance beaucoup plus élevés pour Céfotaxime, Cotrimoxazole et le Colistine de 100%, 96% et 95,5% respectivement.

CABRAL et al. (2012) au Brésil, ont déclaré que sur vingt-quatre isolats cliniques de *K. pneumoniae*, 11 sont isolées des prélèvements urinaires dont 11(100%) représente un profil de résistance à l'association SXT, 10 (90,90%) au Cotrimoxazole et 5 (45,45%) pour l'imipénème.

Résistance aux antibiotiques dans le pus : Cluster III

Le profil de la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. du Cluster III associé au pus est composé de l'Ertapénème, l'Amikacine, l'Amoxicilline et le Céfépime. D'autre part, le Ciprofloxacine, l'Acide Nalidixique, le Céfotaxime, le Céfazoline, l'Imipénème, l'Erythromycine, l'Acide Fusidique, le Cotrimoxazole, l'Oxacilline et la Colistine ont montré des taux de résistance moins faibles et sont loin de pus (Tableau 33 et Figure 26). Il est à noter que l'association Amoxicilline+Acide Clavulanique et Gentamycine ont une distribution spatiale isolée de l'urine et du vagin et même des autres prélèvements dans la présente AFC.

L'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) de la présente étude montre une association du pus avec l'Amikacine, cela est confirmé par l'étude de ROMANUS et EGWU (2011). dans un hôpital au Nigeria, où ils ont trouvé que les isolats provenant de pus ont une forte résistance à l'Amikacine avec un taux de 100%. D'autre part, ils ont trouvé un taux de 41,6% pour le Sulfaméthoxazole/Triméthoprime ce qui concorde avec nos résultats où on a trouvé un taux de 60% pour SXT. Aussi KUMAR (2013) en Inde, a déclaré un résultat élevé pour AMC avec 60,92% ce dernier a une distribution spatiale située entre les trois prélèvements.

Contrairement à nos résultats, SHAHID et al. (2008) en Inde, n'ont trouvé aucune résistance dans le pus pour l'Amikacine, l'Ertapénème, l'Amoxicilline et le Céfépime. D'autre part ils ont trouvé une association entre le pus et le Céfotaxime et le Sulfaméthoxazole/Triméthoprimé par des taux de résistance de 92,30% et 100% respectivement. Aussi HUSSAIN et al. (2014) au Pakistan, a rapporté un taux de résistance de 81 % pour CTX, alors que ce dernier se situe dans la présente étude dans le cluster II associé aux prélèvements urinaires et vaginaux avec des taux de résistance de 15 % et 33% respectivement.

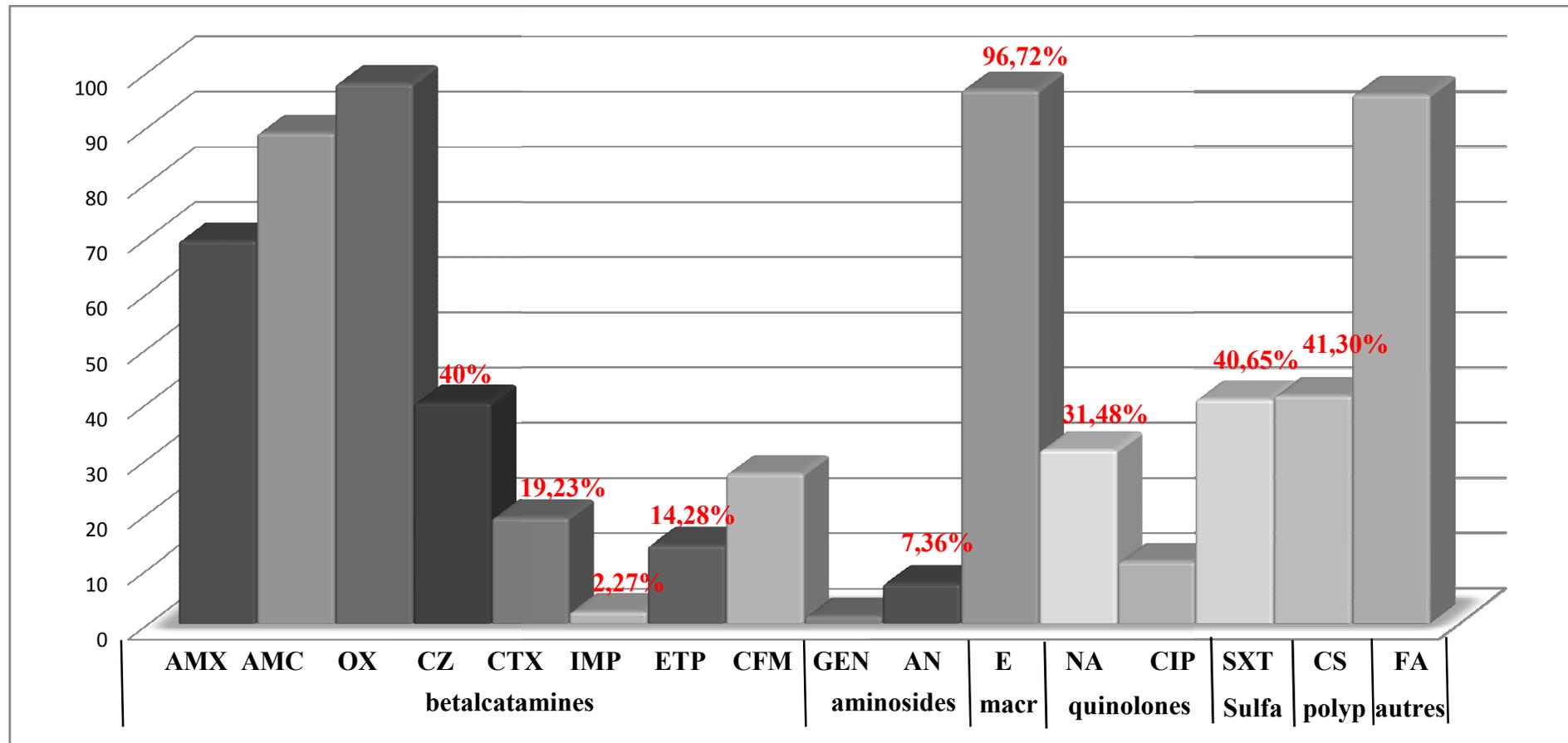
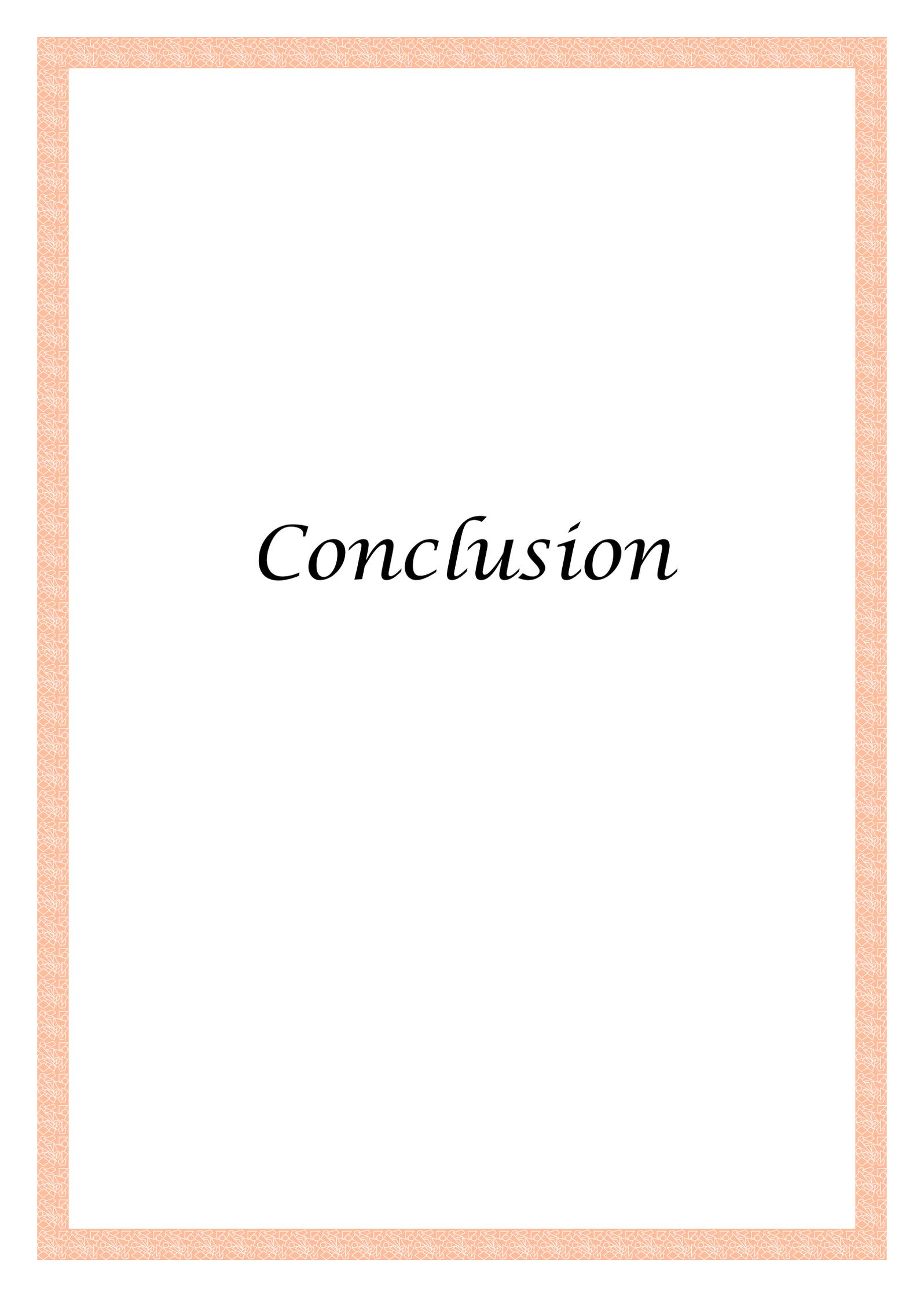


Figure 27. Incidence totale de la résistance aux antibiotiques de 106 souches de *Klebsiella* spp. isolées des hôpitaux de BBA en Algérie de janvier 2015 à février 2016.

AMX : Amoxicilline, **AMC** : Amoxicilline + Acide Clavulanique, **OX** : Oxacilline, **CZ** : Céfazoline, **CTX** : Céfotaxime, **IMP** : Imipénème, **ETP** : Ertapénème, **CFM** : Céfixime, **GEN** : Gentamycine, **AN** : Amikacine, **E** : Érythromycine, **NA** : Acide Nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **CS** : Colistine, **FA** : Acide Fusidique, **SXT** : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole. **Macr** : macrolides, **sulfa** : sulfamides, **polyp** : polypeptides.



Conclusion

3. Conclusion et Perspectives

Les résultats obtenus dans cette étude nous ont permis de collecter les données épidémiologiques sur la résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. dans l'hôpital Bouzidi Lakhdhar et l'EPSP de Medjana de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Les isolats provenaient de différents prélèvements cliniques, de différents sexes et tranches d'âges.

Klebsiella spp. a montré une multirésistance aux différentes familles d'antibiotiques. Les fréquences de résistance les plus élevées ont été observées pour l'Erythromycine (96,72%), l'Acide Fusidique (95,83%) et l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (88,88%), ces données montrent une situation inquiétante de la résistance à ces antibiotiques.

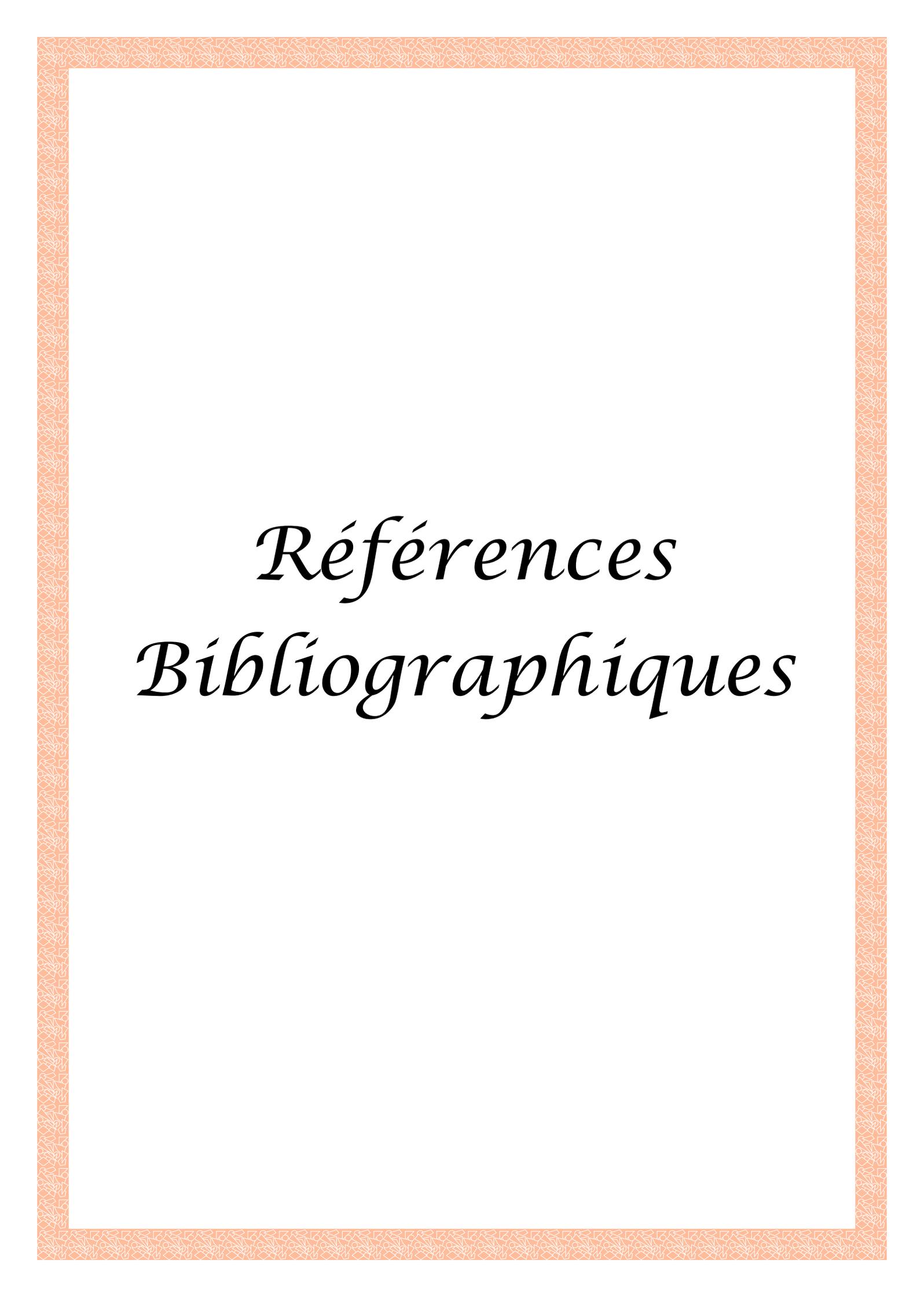
Une résistance relativement moyenne a été constatée pour la Colistine (41,30%), le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (40,65%), le Céfazoline (40%), l'Acide Nalidixique (31,48%), et le Céfépime (27,27%), ces données montrent un état alarmant de la résistance émergente à ces antibiotiques.

Cependant, la résistance était faible pour les autres antibiotiques tels que le Céfotaxime (19,23%), Ertapénème (14,28%), Ciprofloxacine (11,29%), Amikacine (7,36%), Imipénème (2,27%) et Gentamycine (1,42%). Cet état peut servir de solution pour le traitement des infections dues à *Klebsiella* spp., mais l'utilisation de ces antibiotiques doit se faire avec prudence et en dernière issue pour limiter leur développement vers la résistance.

L'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) construite dans cette étude a révélé l'association des hémocultures (le sang) avec les quinolones; le pus avec le Céfépime, l'Amikacine, l'Ertapénème et l'Amoxicilline. Cependant, les prélèvements urinaires et vaginaux ont montré le profil de résistance le plus important composé de l'Imipénème, l'Erythromycine, l'Acide Fusidique, le Cotrimoxazole (SXT), l'Oxacilline, le Céfazoline, le Céfotaxime et la Colistine.

L'intérêt de connaître les associations des profils de résistance aux antibiotiques et les types de prélèvements, est d'améliorer l'efficacité de l'antibiothérapie et limiter la dissémination de la résistance aux antibiotiques. De ce fait, la réduction de la durée de séjour hospitalier du malade et le coût économique de la prise en charge. Enfin, nous recommandons l'utilisation du présent modèle AFC pour la conduite thérapeutique des infections à *Klebsiella* spp. dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

La perspective la plus importante de cette étude est d'explorer par biologie moléculaire les gènes responsables de la résistance aux antibiotiques pour les utiliser comme marqueurs dans les diagnostics et améliorer aussi l'efficacité de la surveillance épidémiologique.



*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

1. AGGOUNE N., TALI-MAAMAR H., ASSAOUS F., BENAMROUCHE N., NAIM M., RAHAL K. (2014). Emergence of plasmid mediated carbapenemase OXA-48 in a *Klebsiella pneumoniae* strain in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2: 327–329.
2. ANONYME 1. (2016). R E G N U M Prokaryotae. *Klebsiella pneumoniae* on MacConkey agar. <http://www.tgw1916.net/image3a>.
3. ANONYME 2. (2011). Agence de la santé publique du Canada. Fiches signalétiques d'agents pathogènes et appréciation du risque. *Klebsiella* spp. <http://www.santepublique.gc.ca>.
4. ANONYME 3. (2015). Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques. Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques. 2016. 13^{ème} Rapport d'évaluation. 76p. <http://www.sante.dz/aarn>.
5. ANONYME 4. (2015). EARS-Net France, Contribution de la France au réseau européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. <http://www.invs.sante.fr>.
6. ANONYME 5. (2015). Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union. EARS-Net surveillance data. <http://ecdc.europa.eu/>
7. ANONYME 6. (2015). comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, recommandation 2015 V2.0 juillet. 117p.
8. ANONYME 7. (2016). Les infections urinaires de l'adulte. Diagnostic et causes. <http://www.vulgaris-medical.com>.
9. ANONYME 8. (2016). Infections urinaires causées par *Klebsiella*. <http://www.econetix.com/infections-urinaires-causees-par-klebsiella/>.
10. ANONYME 9. (2016). Analyse Factorielle des Correspondances (AFC). <https://www.xlstat.com/fr/solutions/fonctionnalites/analyse-factorielle-des-correspondances-afc>.
11. AOUCHE A. (2010). Recherche sur les actinomycètes des sols de Ghardaïa antagonistes de microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'homme: isolement, taxonomie et caractérisation des molécules actives. Mémoire pour l'obtention du magister en Microbiologie appliquée et moléculaire. Université Djilali liabes .Sidi Bel Abbes.159p.

12. **AOUICHE A. (2013).** Taxonomie et antibiotiques de quelques souches de *Streptomyces* et de *Saccharothrix* des sols de Ghardaïa actives contre les microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'homme. Thèse pour obtenir doctorat en Microbiologie. L'école normale supérieure de Koumba- Alger.159p.
13. **ARAFI N., SMATI F., SCHEFTEL J., MEUNIER O. (2009).** caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* isolées à l'hôpital universitaire de Constantine, Algérie. *Sciences et Technologie*: 43-49.
14. **ARIFFIN H., NAVARATNAM P., MAHFUZAH M., ARASU A., WAN ARIFFIN A., LEE CHAN L., PENG LIN H. (1999).** Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infection in Children with Febrile-Neutropenia. *Inter. Journal. Infect. Dis.* 4: 21-25.
15. **ARSALANE L., QAMOISS Y., CHAFIK A., BOUGHALEM M., LOUZI L. (2005).** Epidémiologie des bactéries multi résistantes dans un service de réanimation polyvalente d'un hôpital universitaire de Marrakech entre octobre 2006 et septembre 2009. *Les technologies de laboratoire – 2010.* 5 (21).
16. **BAROUD M., DANDACHE I., ARAJ G., WAKIM R., KANJ S., KANAFANI Z., KHAIRALLAH M., SABRA A., EHAB M., DBAIBO G., MATAR. (2013).** Underlying mechanisms of carbapenem resistance in Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates at a tertiary care centre in Lebanon : role of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases. *Inter. Journal. Antimicrob. Agent.* 41: 75–79.
17. **BAUDRAND H., MBATCHOU B., MARCU M., FREYMOND N., PACHECO Y., DEVOUASSOUX G. (2009).** Pneumopathie communautaire abcédée à *Klebsiella pneumoniae*. *Revue des Maladies Respiratoires* 26(7) : 773-778.
18. **BELBEL. (2014).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse pour obtenir doctorat en microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba. 146p.
19. **BEN HAJ KHALIFA A., KHEDHER M. (2010).** Epidémiologie des souches de *Klebsiella spp.* uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien, 2009. *Pathologie Biologie* 60 (2012): 1-5.
20. **BEN MOUSSA A. (2016).** Profile De Sensibilité Des Entérobactéries Aux Fluoroquinolones Au CHU De Rabat. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed v- rabat : P77.

21. **BEN REDJEB S., BOUTIBA-BEN BOUBAKER I. (2007).** L'Antibiorésistance en Tunisie. Données 2004- 2007: 78p.
22. **BOKAEIAN M., SAEIDI S., SHAHI Z., KADAEI V. (2014).** *tetA* and *tetB* Genes in *Klebsiella Pneumoniae* Isolated From Clinical Samples. *Gene Cell Tissue.* 1(2): 18152.
23. **BOUCHER F. (2015).** La méningite bactérienne aigue aspects fondamentaux et thérapeutiques. Maladies Infectieuses. Faculté de médecine. Université Laval. 23p.
24. **CABRAL., MELO., MACIEL., LOPES.(2012).** Multirug 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(5): 572-578.
25. **CALOP J., LIMAT S., FERNANDEZ C., AULAGNER G. (2012).** Pharmacie clinique et thérapeutique. 4^{ème} édition. 1296p.
26. **CAO X., XU X., ZHANG Z., SHEN H., CHEN JUNHAO., ZHANG. (2014).** Molecular characterization of clinical multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. Cao et al. *Annal. Clinic. Microbiol. Antimicrob.* 13:16.
27. **CLAVE D. (2013).** Fiche technique: *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*. Fiche Technique Bactériologie.3p.
28. **CLAVE D., ARCHAMBAUD M. (2008).** Fiche Technique: *Klebsiella oxytoca*. Fiche Technique Bactériologie.3p.
29. **EL FERTAS-AISSANI R., MESSAI Y., ALOUACHE S., BAKOUR R. (2013).** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie. Biologie.* 61: 209-216.
30. **ELHANI D., BAKIR L., AOUNI M. (2011).** Changement de l'épidémiologie de *Klebsiella pneumoniae* productrice de β -lactamases à spectre élargi. *Annal. Bio. Clinic.* 69 (5) : 523-9.
31. **ELOLA A., GYEBRE Y., OUATTARA M., OUOBA K. (2012).** Le rhinosclérome: deux observations à Bobo-Dioulasso au Burkina Faso. *Médecine et Santé Tropicales.* 22. N8 4 - octobre-novembre-décembre 2012.
32. **FOURCADE J. (2006).** Infection des voies urinaires de l'adulte. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes: p23.
33. **FUNG C., LIN Y., LIN J., CHEN T., YEH K., CHANG F., CHUANG H., WU., TSENG C., SIU L. (2012).** *Klebsiella pneumoniae* in Gastrointestinal Tract and Pyogenic Liver Abscess. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • 18 (8).

34. GAUTIER V. (2007). Caractérisation et expression des gènes codant pour les β -lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement. Mémoire réalisé Pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes. Ecole Pratique Des Hautes Etudes : 25p.
35. GHERASSI A., BOURAS R., BENSALAH N. (2014). Etude de l'antibiorésistance de *Klebsiella* spp. à l'hôpital de Mila. Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie appliquée et environnement. Centre Universitaire de Mil: 64p.
36. GRALL N., ANDREMONT A., ARMAND-LEFÈVRE L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse. *Journal. Anti. infect.* P 16.
37. HASSAINE S. (2013). Etude de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen. Mémoire pour obtenir master en contrôle du développement microbien. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen: 55p.
38. HERRAK L., MSOUGAR Y., ALAZIZ S., MASLOUT A., BENOSMANE A. (2009). Le sclerome trachéale et le rhinosclérome : à propos d'un cas. *Revue des maladies respiratoires.* (26): 74 p.
39. HUDSON C., BENT Z., MEAGHER R., WILLIAMS K. (2014). Resistance Determinants and Mobile Genetic Elements of an NDM-1-Encoding *Klebsiella pneumoniae* Strain. *PLoS ONE. journal. pone* 9(6): 99209.
40. HUSSAIN T., JAMAL M., NIGHAT F., ANDLEEB S. (2014). 3rd Generation Cephalosporin Resistance in *Klebsiella pneumoniae* from Pus Samples. *Wor. J. Zool* 9 (4): 276-280.
41. HUSSEIN K., RAZ-PASTEUR A., FINKELSTEIN R., NEUBERGER A., SHACHOR-MEYOUHAS Y., OREN I., KASSIS I. (2013). Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital -acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Journal. Hosp. Infectn.* 83: 307-313.
42. HYAMS VJ., BATSAKIS JG., MICHAELS L., HARTMANN WH., SOBIN LH. (1988). Tumors of the respiratory tract and ear. Second series. *Edition Washington: Armed forces Institute of pathology*: 341p.
43. JACQUES Q., ALEXANDRE S., FINGERHUT A. (2011). Dictionnaire médicale avec atlas anatomique. 6^{ème} édition: 1561p.
44. JAFFAR A., AMALRAJ A. (2007). Antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* in a Saudi Arabian hospital: results of a 6-year surveillance study, 1998–2003. *Japan Soci of Chemother and The Japan Associ for Infect Diseases.*13: 230–234.

45. **KABBAJ H., SEFFAR M., RAZOUK S., HANDOUR N., AMOR M., RAZINE R., BELEFQUIH B., ALAOUI AE. (2012).** Activité in vitro de la Tigécycline vis-à-vis les entérobactéries sécrétrices de β -lactamases à spectre étendu dans un hôpital marocain. *Journal. Biol Méd* 1 (3).
46. **KARAH N., POIREL L., BENGTSOON S., SUNDQVIST M., KAHLMETER G., NORDMANN P., SUNDSFJORD A., SAMUELSEN O et le groupe norvégien de l'éducation. (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.
47. **KASSIS-CHIKHANI NAJIBY. (2010).** *Klebsiella Pneumoniae* Pathogene Nosocomial Resistance Et Virulence. Thèse pour l'obtention de doctorat en microbiologie. Université pierre et marie Curie : 190p.
48. **KENNETH J., GEORGE RAY C. (2004).** Sherri's medical microbiology an introduction to infectious diseases. Fourth edition. McGraw-Hill MedicalPublishingDivision.USA: 979p.
49. **KO W., PATERSON D., ANTHANASIA J., SAGNIMENI., DENNIS S., HANSEN., GOTTBORG A., MOHAPATRA S., CASELLAS J., GOOSSENS HERMAN., MULAZIMOGLU L., TRENHOLME G., KLUGMAN., MCCORMACK J., YU V. (2002).** Community-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Global Differences in Clinical Patterns. *Emerging Infectious Diseases*. 8(2).
50. **KONE K. (2010).** Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie cvd du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2007. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto – Stomatologie, université de Mali: 96p.
51. **KUMAR A. (2013).** Antimicrobial sensitivity pattern of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus from tertiary care hospital and issues related to the rational selection of antimicrobials. *Journal. Chemi. Pharm. Rese.* 5(11): 326-331.
52. **LABID A. (2015).** Etude fréquentielle des bactéries responsables des infections septicémiques chez les enfants dans la région d'Annaba. thèse pour obtenir doctorat en microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba: 157p.
53. **LAGHA N. (2015).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse pour obtenir doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen: 84p.

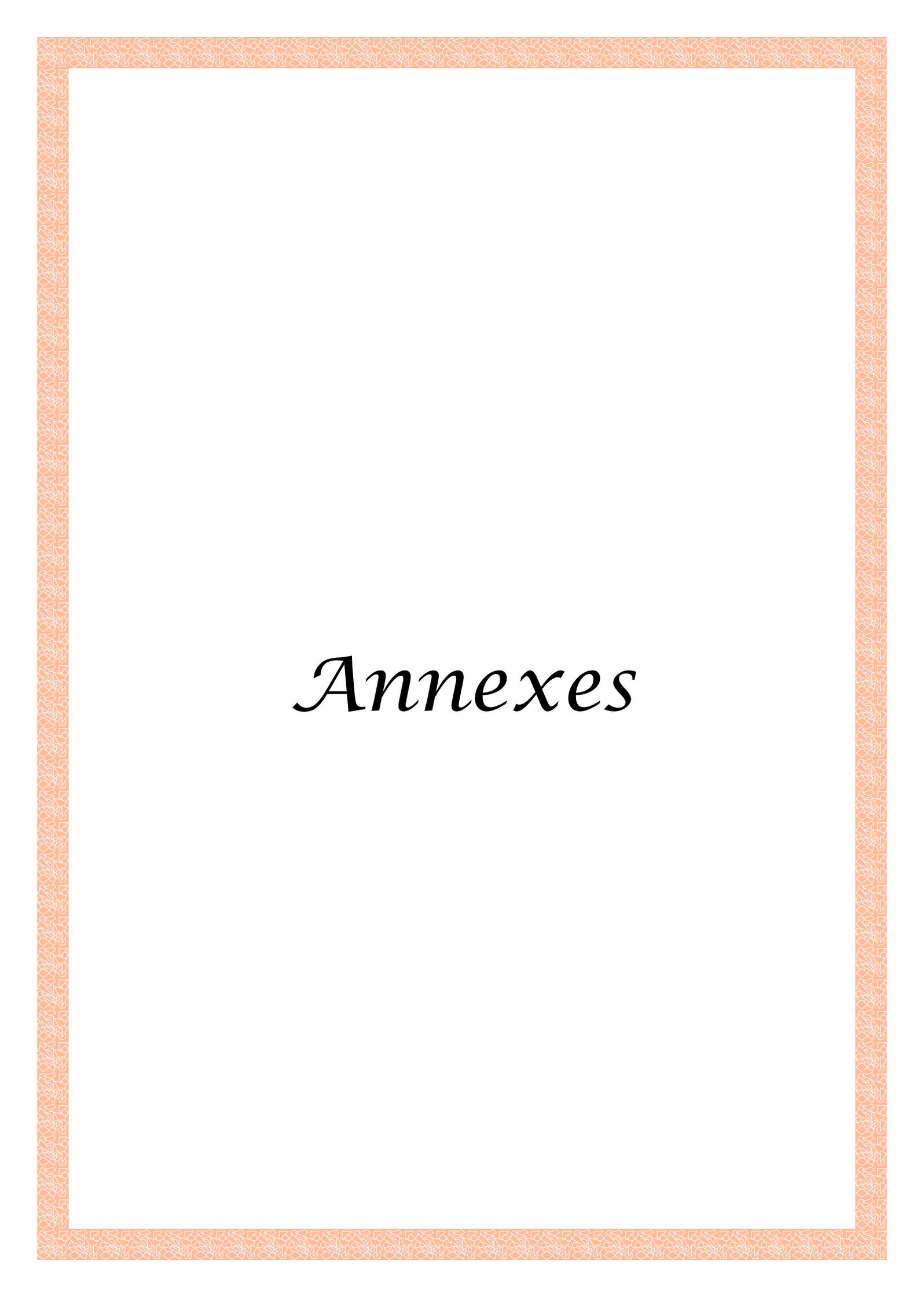
54. LEYS D. (2001). Abscès cérébraux et empyèmes intracrâniens. *Encycl Méd Chir. Neurologie*, 17-485-A-10: 7 p.
55. LI X., ZHANG D., CHEN F., Ma J., DONG Y., ZHANG L. (2004). *Klebsiella singaporensis* sp. Nov., a novel isomaltulose-producing bacterium. *Inter. Journal. Sys. Evol. Microbiol.* 54: 2131-2136.
56. LINARES L., CERVERA C., HOYO I., SANCLEMENTE G., MARCO F., COFÁN F., RICART M., NAVASA M., MORENO A. (2010). *Klebsiella pneumoniae* Infection in Solid Organ Transplant Recipients: Epidemiology and Antibiotic Resistance. *Transplantation Proceedings.* 42 : 2941-2943.
57. Liu Y., Yang L., Wan L., Jiang W., Yang J., Li F. (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: 41-243.
58. LOZNIEWSKI A., RABAUD C. (2010). Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux - Infections associées aux soins: 4p.
59. LUPESCU I., BOROS M., GRASU M., CAMPEANU N. (2016). Les pseudotumeurs inflammatoires du foie: aspects tomodynamométriques et en résonance magnétique. Service De Radiologie Et Imagerie Médicale. Bucarest, Roumanie: 23p.
60. MA L., LIN C., CHEN J., FUNG C., CHANG F., LAI Y., LIN J., SIU L., et le projet du réseau de surveillance aux antimicrobiens de Taïwan. (2009). Widespread Dissemination of Aminoglycoside Resistance Genes *armA* and *rmtB* in *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Taiwan Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum – Lactamases. *Antimicrob. Agents. Chemother. Jan:* 104–111.
61. MAÏGA I., SIDIBÉ M., MAÏGA A., ROCHEREAU A. (2004). Les Bactéries Isolées Par Hémocultures À L'hôpital Du Point "G". *Mali Médical.* 6(1): 6p.
62. MAMMERI HEDI. (2016). Mode D'action Des Antibiotiques. MCU-PH, Service de Bactériologie. CHU Amiens: 36p.
63. MELANÇON F. (2007). Le granulome inguinal : rare, mais pas impossible. le clinicien VOL juillet 2007: p2.
64. MERLIN C., TOUSSAINT A. (1999). Les éléments transposables bactériens. Société Française de Génétique. m/s n° 8-9. 15.

65. **MOSQUEDA-GOMEZ J., MONTANO-LOZA A., ROLON A., CERVANTES C., BOBADILLA-DEL-VALLE M., SILVA-SANCHEZ J., GARZA-RAMOS U., VILLASIS-KEEVER A., GALINDO-FRAGA A., RUIZ PALACIOS G., PONCE-DE-LEON A., SIFUENTES-OSORNIO J. (2008).** Molecular epidemiology and risk factors of bloodstream infections caused by extended –spectrum -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* a case-control study. *Inter. Journal. Infect. Diseases.* 12 : 653-659.
66. **MUYLAERT A., MAINIL J.G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annal. Méd. Vét.* 156: 109- 123.
67. **NOVELLI A., CONTI S., CASSETA M., FALLANI S. (2000).** Cephalosporins a pharmacological update. *Clinic Microbiol Infect.* 6 (3): 50-52.
68. **ONDENOT YANN CHRISTIAN. (2009).** Surveillance de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*. Mémoire pour l'obtention Du Diplôme d'Etat de Technicien supérieur de biologie médicale. Université des sciences de la sante: 53p.
69. **ORTEGA M., MARCO F., SORIANO A., ALMELA M., MARTÍNEZ A., LÓPEZ J., PITART C., MENSA J. (2011).** Cefotaxim e resistance and outcome of *Klebsiella* spp bloodstream infection. *Journal. Clinic Microbiol Infect Dis.*30: 1599-1605.
70. **OUAKHZAN B. (2011).** Profil de resistance aux antibiotiques des principales entérobactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire d'instruction mohamed V. Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Université Mohammed V: 109p.
71. **PAGANO L., CAIRA M., TRECARCHI MARIA., SPANU T., BLASI R., SICA S., SANGUINETTI M., TUMBARELLO M. (2014).** Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* and Hematologic Malignancies .*Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • 20 (7): 2p.
72. **PATERSON D., KO W., GOTTBORG A., MOHAPATRA S., CASELLAS J., GOOSSENS H., MULAZIMOGLU L., TRENHOLME G., KLUGMAN P., BONOMO R., RICE L., WAGENER., MCCORMACK J., Yu Vi. (2004).** International Prospective Study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Extended-Spectrum -Lactamase Production in Nosocomial Infections. *Annal. Inter. Med:* 140: 26-32.
73. **PATRICK GUILFOILE. (2007).** Antibiotic Resistant Bacteria: 128p.

74. **PÉREZ-MORENO., CENTELLES-SERRANO., CORTELL-ORTOLÁ., FORT-GALLIFA., RUIZ., LLOVET-LOMBARTE., PICÓ-PLANA., JARDÍ-BAIGES. (2011).** Molecular epidemiology and resistance mechanisms involved in reduced susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a chronic care centre. *Inter. Journal. Antimicrob. Agents*, 37: 462-466.
75. **POOLE K. (2004).** Resistance to β -lactam antibiotics. *Cell. Mol. Life Sci.* 61: 2200-2223.
76. **PRESCOTT M. (2002).** Microbiology. 5thédition: 1026p.
77. **PRESCOTT., HARLEY., KLEIN. (2002).** Microbiology. Edition d'octobre 2002: 1026p.
78. **Quevauvilliers J., Somogyi A., Fingerhut A. (2011).** Dictionnaire médical avec atlas anatomique. 6^{ème} édition: 1533p.
79. **RODRÍGUEZ I., NOVAIS A., LIRA F., VALVERDE A., CURIÃO T., MARTÍNEZ JL., BAQUERO F., CANTÓN R., COQUE TM. (2015).** Antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* high-risk clones and an IncFIIk mosaic plasmid hosting TnI (*bla*TEM-4) in isolates from 1990 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother.* 59: 2904-2908.
80. **ROMANUS I., EGWU O., NGOZI A., CHIDIEBUBE N., CHIKA E. (2009).** Extended Spectrum Beta – Lactamase (ESBL) Mediated Resistance to Antibiotics Among *Klebsiella pneumoniae* in Enugu Metropolis. *Macedonian Journal of Medical Sciences*: 4p.
81. **ROMANUS I., EGWU OJI ANTHONIA. (2011).** Analysis Of Antibiotic Susceptibility Of *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Different Clinical Specimen In Enugu State.
82. **SAELY S., KEITH A., FAIRFAX M., MD, CHOPRA T., POGUE M. (2011).** Investigating the impact of the definition of previous antibiotic exposure related to isolation of extended spectrum b-Lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. *Americ. Journal Infect. Contl.* 39 (5): 6p.
83. **SCHAECHTER MOSELIO. (2004).** The Desk Encyclopedia of Microbiology: 1149p.
84. **SCHELENZ S., BRAMHAM K., GOLDSMITH D. (2011).** Arthrite à *Klebsiella pneumoniae* producteur de beta-lactamases à spectre élargi : à propos de deux observations: p1.

85. **SECK R. (2005)**. Résistance des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infections urinaires. Thèse pour obtenir doctorat en pharmacie. Université de Cheikh Anta Diop. Dakar: 67p.
86. **SEKHRI A. (2011)**. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse pour obtenir doctorat en biologie. Université Mentouri de Constantine: 187p.
87. **SHAHID M., MALIK A., AKRAM M., AGRAWAL L., KHAN A., AGRAWAL M. (2008)**. Prevalent phenotypes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at an Indian tertiary care hospital: plasmid-mediated ceftazidime resistance. *Inter. Journal. Infect. Diseases*. 12: 256-264.
88. **SHIBL ATEF., AL-AGAMY M., MEMISH ZIAD., SENOK A., ABDUL KHADER S., ASSIRI A. (2013)**. The emergence of OXA-48- and NDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Inter. Journal. Infect. Diseases*. 17: 1130-1133.
89. **SOUNA D. (2011)**. Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Mémoire de magister en biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen: 126p.
90. **TLAMÇANI Z., ELLAIA K., BENOMAR A., KABBAJ H., ALAOUI A., SEFFAR M. (2009)**. La résistance aux fluoroquinolones chez des souches de *Klebsiella* spp productrices de bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les urines. *Annal. Biol. Clinic*. 67 (5): 553-6.
91. **VAN BAMBEKE F., TULKENS P. (2008)**. Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse. Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain: 202p.
92. **WANG G., HUANG T., SURENDRAIAH P., WANG K., KOMAL R., ZHUGE J., CHERN C., KRYSZUK A., KING C., GARY P. (2013)**. CTX-M β -Lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in Suburban New York, New York, USA. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • 19(11): 8p.
93. **WANG L., FANG H., FENG J., YIN Z., XIE X., ZHU X., WANG J., CHEN W., YANG R., DU H et ZHOU D. (2015)**. Complete sequences of KPC-2-encoding plasmid p628-KPC and CTX-M-55-encoding p628-CTXM coexisted in *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol*. 6: 838.

94. **WARDLAW T., JOHANSSON E., HODGE MATTHEW. (2006).** La pneumonie de l'enfant un fléau oublié. l'organisation mondiale de la santé OMS et l'UNICEF: 40p.
95. **WU K., LI L., YAN J ., TSAO N ., LIAO T., TSAI H ., FUNG C ., CHEN H., LIU Y ., WANG J ., FANG C., CHANG S ., SHU H., LIU T ., CHEN Y., SHIAU Y ., LAUDERDALE T., SU I ., KIRBY RALPH., TSAI S. (2009).** Genome Sequencing and Comparative Analysis of *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044, a Strain Causing Liver Abscess and Meningitis. *Journal. bacterial.*191(14): 4492-4501.
96. **YANG JIANG., DONGLIANG YU., PING SHUN., ZHIHUI ZHOU ET YUNSONG YU. (2010).** Complete Nucleotide sequence of *Klebsiella pneumoniae* multidrug resistance plasmid pKP048, Carrying blaKPC-2, blaDHA-1, qnrB4, and armA. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 54(9): 3967-3969.
97. **YING J., WU S., ZHANG K., WANG Z., ZHU W., ZHU M., ZHANG Y, CHENG C., WANG H., TOU H., ZHU C., LI P., YING J., XU T., YI H., LI J., NI L., XU Z., BAO et LU J. (2015).** Comparative genomics analysis of pKF3-94 in *Klebsiella pneumoniae* reveals plasmid compatibility and horizontal gene transfer. *Front. Microbiol.* 6: 831.



Annexes

Annexe 01 : Formule des milieux de culture

Hecktoen (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010).

Composition :

Protéose-peptone.....	12g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Sels biliaires.....	9g
Salicine.....	2g
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5 g
Lactose.....	12g
Saccharose.....	12g
Fuschine Acide.....	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g
Agar.....	14g
Eau distillée.....	1000 ml

pH 7,5

(Laisser bouillir quelques secondes, mais ne pas autoclaver).

Mueller-Hinton (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010).

Composition

Infusion de viande de bœuf	300,0
Hydrolysate de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar.....	17,0 g

pH finale 7,4 (environ)

(Stérilisation à 121°C pendant 15 min).

Bouillon Nutritif (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010).**Composition**

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande).....	1L
Peptone tryptique.....	15g
NaCl ou KCl.....	5g
pH.....	7,2-7,4
(Stérilisation à 115°C pendant 20 min)	

Gélose Nutritive : bouillon nutritif solidifié par l'addition d'agar-agar (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010).

Composition

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande).....	1L
Peptone tryptique	15g
NaCl ou KCl.....	5g
Agar.....	15 à 20g
PH final 7,2-7,4	
(Stérilisation à 115°C pendant 20 min)	

Mannitol-Mobilité (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010)**Composition**

Peptone de viande.....	20g
Agar.....	4g
Mannitol.....	2g
KNO ₃	1g
Rouge de phénol à 1%	4ml
pH finale 7,6 – 7,8	
(Stériliser à 110°C pendant 30 min).	

Citrate de Simmons (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010)**Composition**

Sulfate de magnésium.....	0,2g
Phosphate mono-ammoniaque.....	1g
Phosphate bipotassique.....	1g
Citrate de sodium.....	2g
Chlorure de Sodium.....	5g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar.....	15g
pH finale 6,8	
(Stériliser à 120 °C pendant 15 min)	

TSI (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010)**Composition**

Extrait de viande de bœuf.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate ferrique.....	0,3g
Thiosulfate de sodium.....	0,3g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	1g
Rouge de phénol.....	0,05*L
Agar.....	12g
pH final 7,4	
*Ou 5ml de solution à 1%.	
(Stériliser à 120°C pendant 15 min).	

Urée-Indole (SENOUCI BEREKSI et ABDELOUAHID, 2010)**Composition**

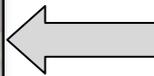
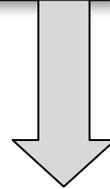
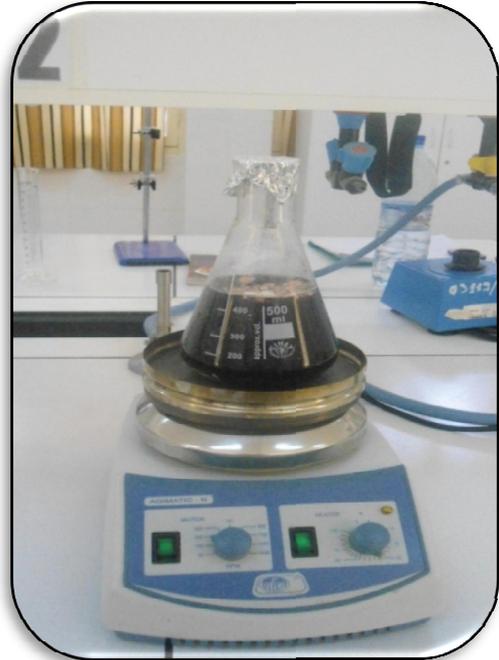
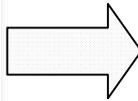
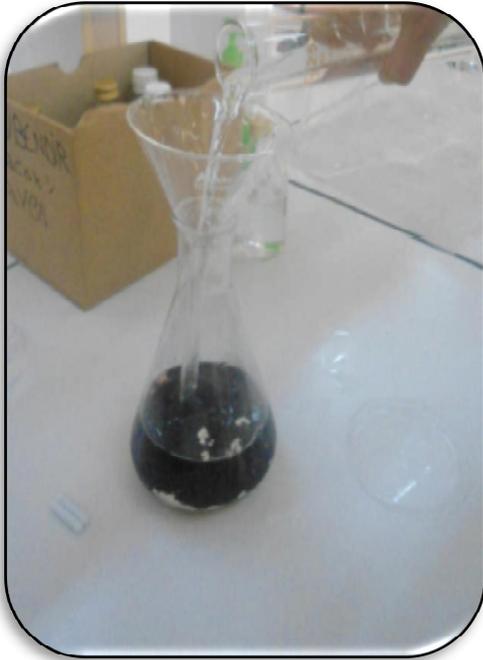
L-tryptophan.....	0,3g
KH ₂ PO ₄	0,1g
K ₂ HPO ₄	0,1g
NaCl.....	0,5g
Urée.....	2g
Alcool à 95°.....	1 ml
Rouge de phénol à 1%	0,25 ml
Eau distillée.....	100 ml

pH final 6,7

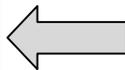
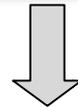
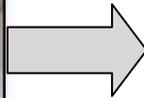
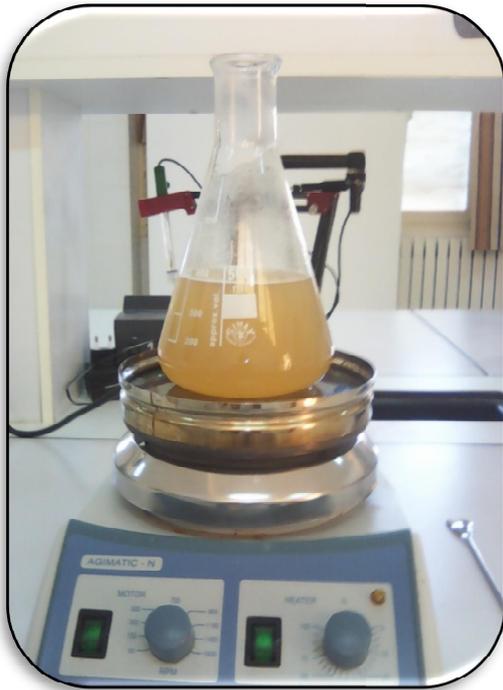
(Stériliser Par filtration)

Annexe 02 : Préparation des milieux de culture

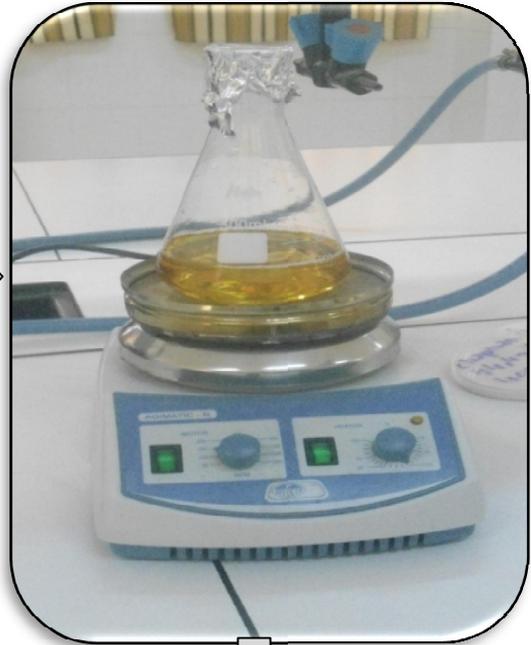
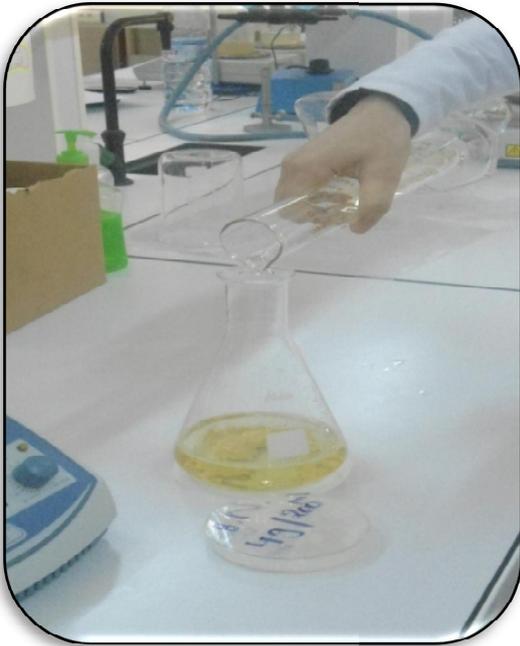
Préparation du milieu Hecktoen



Préparation du milieu Muller Hinton



Préparation du bouillon Nutritif



Annexe 03 : Fiche de renseignement

Fiche de renseignement

La résistance aux antibiotiques de *Klebsiella* Spp.

- Médecin ()
- Laborantin ()
- Biologiste ()
- Age de malade :
- Sexe de malade :
- Date d'hospitalisation :
- Service d'hospitalisation :
- Nature de prélèvement : - P. urinaire - P. vaginale -P. sanguine -Pus
- LCR - hémoculture -autres prélèvements
- Etat de santé de malade :
- Antécédent des maladies ou d'infections
- Date de prélèvement
- Identification
- Résultat d'antibiogramme
 - Sensible :
 - Intermédiaire :
 - Résistant
- Autres informations :

Annexe 04 : Table des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries (CASFM, 2015).

antibiotique	Charge de disque µg	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Aztréonam	30	9-17	/	/
Céfotaxime	5	12-18	12-18	/
Cefpodoxime	10	9-16	/	/
Ceftazidime	10	6-12	6-12	/
Ceftriaxone	30	16-22	16-22	/
Ampicilline	10	<14	/	≥14
Amoxicilline	20	<19	/	≥19
Amx/ac calv	20	<19	/	≥19
Pipéracilline	30	<20	/	≥17
Ticarilline	75	<23	/	≥23
Céfalexine	30	<14	/	≥14
Céfépime	30	<24	/	≥21
Céfixime	5	17	/	17
Céfotaxime	5	20	/	17
Céfoxitine	30	19	/	15
Ceftazidime	10	22	/	19
Ceftriaxone	30	23	/	20
Doripénème	10	24	/	21
Ertapénème	10	25	/	22
Imipénème	10	22	/	16
Méropénème	10	22	/	16
Aztréonam	30	24	/	21
Ciprofloxacine	5	22	/	19
Lévofloxacine	5	22	/	19
Acide nalidixique	30	19	/	14
Norflxacine	10	22	/	19
Oflxacine	5	22	/	19
Amikacine	30	16	/	13
Gentamicine	10	17	/	14
Tobramycine	10	17	/	14
Chloramphénicol	30	17	/	17
Triméthoprime / sulfaméthoxazole	1,25-23,75	16	/	13

Résumé

L'étude des profils de résistances aux antibiotiques de *Klebsiella* spp. isolée dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, a montré une multirésistance aux différentes familles d'antibiotiques. Les fréquences de résistance les plus élevées ont été observées pour l'Erythromycine (96,72%), l'Acide Fusidique (95,83%) et l'Amoxicilline/Acide Clavulanique (88,88%). Une résistance relativement moyenne a été constatée pour la Colistine (41,30%), le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (40,65%), le Céfazoline (40%), l'Acide Nalidixique (31,48%), et le Céfépime (27,27%). Cependant, la résistance était faible pour les autres antibiotiques tels que le Céfotaxime (19,23%), Ertapénème (14,28%), Ciprofloxacine (11,29%), Amikacine (7,36%), Imipénème (2,27%) et Gentamycine (1,42%). L'AFC a montré trois clusters importants regroupant les prélèvements du sang, vagin, urine et pus avec leurs profils de résistance associés.

Mots clés : *Klebsiella* spp., résistance aux antibiotiques, AFC, wilaya de Bordj Bou Arreridj

Abstract

The study of antibiotics resistance profiles of *Klebsiella* spp. isolated in Bordj Bou Arreridj, shows a multiresistance to different antibiotics groups. The highest resistance frequency was observed to Erythromycin (96,72%), Fusidic Acid (95,83%), Amoxicillin/Clavulanic Acid (88,88%). A relatively average resistance was found to Colistin (41,30%), Cotrimoxazol (40,65%), Cefazolin (40%), Nalidixic Acid (31,48%), and Cefepim (27,27%). However, the resistance was low to other antibiotics as Cefotaxim (19,23%), Ertapenem (14,28%), Ciprofloxacin (11,29%), Amikacin (7,36%), Imipenem (2,27%) and Gentamycin (1,42%). The FCA shows three important clusters gathering the samples of blood, vagina, urine and pus with their associated resistance profiles.

Key words : *Klebsiella* spp, resistance to antibiotics, FCA, Bordj Bou Arreridj.

ملخص

بينت دراسة أنماط المقاومة للمضادات الحيوية للكليبيلا المعزولة في ولاية برج بوعريريج مقاومة متعددة لمختلف عائلات المضادات الحيوية. حيث لوحظت أعلى قيم المقاومة للاريتروميسين (96,72٪)، حمض الفوسيديك (95,83٪) و الأموكسيسيلين/حمض كلافلانريك (88,88٪). ولوحظ وجود مقاومة متوسطة نسبيا للكوليسيتين (41,30٪)، السلفاميثوكسازول/تريميتوبريم (40,65٪)، والسيفازولين (40٪)، وحمض الناليدكسيك (31,48٪)، والسيفبييم (27,27٪). بينما، لوحظت قيم منخفضة للمقاومة للمضادات الحيوية الأخرى مثل السيفوتاكسيم (19,23٪)، الإيرتابينيم (14,28٪)، السيبروفلوكساسين (11,29٪)، الأميكاسين (7,36٪)، الإيميبينيم (2,27٪) والجنتاميسين (1,42٪). أظهر تحليل العوامل المراسلات AFC ثلاث مجموعات رئيسية تضم عينات الدم، المهبل، البول و القيح مرتبطة مع أنماط المقاومة.

الكلمات المفتاحية: المقاومة للمضادات الحيوية، الكليبيلا، تحليل العوامل المراسلات، برج بوعريريج.