REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRTIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Option : Immunologie et Maladies Infectieuses

THÈME :

Enquête épidémiologique sur les infections urinaires nosocomiales causées par *Klebsiella pneumoniae*

Présenté par :

- BENZAID Faiza Atika - CHIKER Amina

Soutenu publiquement le : 27 /09/2017 devant le jury composé de :

Membre	Nom et prénoms	Grade	Université
Promoteur	RAHAL Mohamed	MAA	Dr Yahia Farès Médéa
Co-promoteur	MOKHTARI.M	Médecin	EPH Médéa
Président	NABI Ibrahim	MAA	Dr Yahia Farès Médéa
Examinateur 1	BOUBAKRI Kamel	MAB	Dr Yahia Farès Médéa

Année universitaire: 2016/2017

Dédicaces

Je dédie cet humble travail à…

♥ *A mon très cher père* ♥

qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.

Dieu tout puissant te garde et te procure santé,
bonheur et longue vie.

♥ *A ma très chère mère* ♥

qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien,
tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils,
pour toute son assistance et sa présence dans ma vie,
reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il,
l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.
Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et
t'accorder santé, longue vie et bonheur.

♥ *A mes très chères soeurs* ♥

Chaimaa Meriem Hadjer

En témoignage de l'attachement,
de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.
Que Je te dédicace travail avec tous mes voeux de bonheur et de santé.

♥ *A mes chères grands-mères* ♥

Je vous dédie ce travail avec tous mes voeux de bonheur et de santé.

♥ *A toute ma famille: oncles, tantes, cousins et cousines* ♥

À toute la famille CHIKER et la famille YOUSFI
petits et grands

♥*A mon binôme « Atika» qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail*♥

♥ *A mes chères amies et collègues* ♥

Halima Nada Manel Amira

qui m'ont aidé durant toute ma vie estudiantine,
et à ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin.

CHIKER Amina

Dédicaces

« BENZAID Faiza Atika »

Je dédie ce travail à mon cher mari la personne qui a su guider mes pas égarés vers un horizon plus clair, plus joyeux.

Je remercie infiniment mes parents qui m'ont beaucoup aidé pour finir ce travail, ils étaient toujours là à mes côtés pour me soutenir et pousser de l'avant.

Je tiens également à remercier également mon frère Nabil et ma sœur Souraya qi m'ont supporté durant toutes mes années d'études. Et je n'oublierais pas biensur mes amis et collègues de l'université Halima, Manel, Nada, Amira.

Remerciements :

Nous souhaiterons tout d'abord remercier l'équipe de L'hôpital Médéa pour l'accueil qu'elle nous a réservé, le temps que chacun de ses membres nous a accordé, et plus globalement, pour toutes les informations, références bibliographiques, manipulations réflexions, corrections… que chacun nous a apporté et qui ont nourrit ce travail, plus particulièrement Dr.Mokhtari et Dr Kabache.

Nous remercions également cet établissement de nous avoir fait découvrir et approché le monde du travail et nous ouvrant les portes de ses différents services.

Nous remercions également nos professeurs pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué au cours de ces années passées à l'université de Yahia Fares à Médéa. Nous remercions tout particulièrement M. Rahal Mohamed notre promoteur et M. Oumouna le doyen de notre faculté qui nous ont laissé une large part d'autonomie dans ce travail tout en nous aiguillant sur des pistes de réflexions riches et porteuses.

Par ce travail, nous espérons faire honneur à vos enseignements et être digne
de la confiance que vous nous avez accordée.
***A monsieur « NABI Ibrahim»** qui nous fait l'honneur de bien vouloir présider notre jury.*
-A nos examinateurs : «Mr ***BOUBEKRI Kamel*** » et **«*Mme MOUZAOUI FZ*»** *pour avoir accepté de juger notre mémoire.*

Nous remercions enfin tout ceux qui ont participé de près ou de loin pour réussir ce travail.

Liste des abréviations

ADH: Arginine dihydrolase

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique.

AMX: Amoxicilline

Ak: Amikacine

API20E: Analytical profile index 20E (E= Entérobacreries)

ATB: Antibiotique

ATCC: American Type Culture Collection

ATM: Aztréonam

BLSE: Bêta- lactamase à spectre Elargi ou Etendu

C1G: Céphalosporine de 1ère génération

C2G: Céphalosporine de 2ème génération

C3G: Céphalosporine de 3ème génération

C4G: Céphalosporine de 4ème génération

CAZ: Céftazidime

CHF : Chirurgie Femme

CHH :Chirurgie Homme

CIP: Ciprofloxacine

CLSI: Clinical and Laborotory Standards Institute

CS: Colistine

CTX: Céfotaxime

EMB: Eosine bleu de méthylène

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

FOX: Céfoxitime

FQ: Fluoroquinolones

GEL: Gélatine

G: Gentamicine

H: heure

H_2O_2 : Eau oxygénée

H_2S: Sulfure d'hydrogène

I: Intermédiaire

IMP: Imipénèm

IND: Indole

INO: Inositol

IPP: Institut Pasteur de Paris

IU: Infection Urinaire

K: Antigène capsulaire

Kb: kilo bases

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

K.p: *Klebsiella pneumoniae*

LCR: Liquide céphalorachidien

LDC: Lysine décarboxylase

LPS: lipopolysaccharide

MIF : Médecine Interne Femme

MIH : Médecine Interne Homme

O: Antigène capsulaire

ODC: Ornithine

OMS: Organisation Mondiale de Santé

ONPG: Orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside

PBN: Pénicillinase de bas niveau

PHN: Pénicillinase de haut niveau

PLP: Protéine liant les pénicillines

R: Résistance

RM: Rouge de Méthyle

S: Sensible

Liste des figures :

Figure 01 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé…….6

Figure 02 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae.*…….11

Figure 03 : Prévalence de *Klebsiella pneumoniae* productrice de _-lactamase à spectre élargi (BLSE) par pays…….25

Figure 04 : Galerie API20 E……32

Figure 05 : Répartition des patients selon le service……...35

Figure 06 : Répartition globale des patients selon le sexe…….36

Figure 07 : Distribution globale des patients selon le type d'admission ……...….36

Figure 08 : Distribution globale des patients selon tranche d'âge ……..…37

Figure 09 : Répartition globale des patients selon la pathologie du diabète……...37

Figure 10 : Répartition globale des patients selon la pathologie cardiaque……...….38

Figure 11 : Répartition globale des patients selon la pathologie rénal et /ou des voix urinaires ……..……39

Figure 12 : Répartition globale des patients selon la pathologie de prostate.....39

Figure 13:répartition globale selon le motif d'hospitalisation……...…40

Figure 14 : Aspect des colonies des *klebsiella pneumoniae* sur milieu Hektoen……41

Figure 15 : Résultats de galerie biochimique de *K. pneumoniae* A(oxydase)B (catalase)……..42

Figure 16: Résultats de l'identification d'une souche de *K.p* par galerie API 20E…42

Figure 17 : Résultats d'antibiogramme d'une souche *Klebsiella pneumoniae*……...43

Figure 18: répartition global selon l'agent causal……..43

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Principaux caractères biochimiques de *K. pneumoniae* (Joly et Reynaud, 2002).

Tables des matières

Dédicaces

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Résume

Sommaire

Introduction générale…….1

Partie I :

Recherche bibliographique

I. Les infections ……..3

I.1.Définition de l'infection urinaire ……..…3

I.2. Définition de l'infection nosocomiale …….4

II. Généralités sur *Klebsiella pneumoniae* ……4

II.1. Dénomination……4

II.2.Position taxonomique ……..……4

II.3.Caractères bactériologiques…….4

1.Caractères morphologiques ……...…….5

2. Caractères biochimiques …….5

3. Caractères culturaux ……...……5

4. Caractères antigéniques ……...…6

II.4.Habitat.....6

II.5. Les sources de contamination…….7

II.6. Les modes de transmission……..…7

II.7.Les vecteurs d'infections ……....7

II.8.Pouvoir pathogène ……..7

II.8.1. Pouvoir pathogène naturel ……..8

II.8.2. Pouvoir pathogène expérimental …….8

II.9. Facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* ……..*9*

II.9.1. Le lipopolysaccharide (LPS) ……..……9

II.9.2. La capsule ……...……9

II.9.3.Adhésines …….9

II.9.4. Le fer ……..……..10

II.9.5.Pili (*fimbriae).*……..*10*

III. Examen Cytobactériologique des Urines (E.C.B.U) :…….……..11

III.1.Diagnostic …….……..11

III.2.Examen des urines……11

III.2.1. Hyperleucocyterie……...…….12

III.3.Examen cytobactériologique……..…….12

III.3.1. Examen macroscopique……..……12

III.3.2 Examen microscopique ……..…….12

III.3.2.1. Examen cytologique ……12

III.3.2.2. Examen bactériologique ……..…….13

IV. Epidémiologie ……..…14

IV.1.Marqueurs épidémiologiques ……..……14

IV.1.1.Biotype ……14

IV.1.2.Sérotype ……..14

IV.1.2.1. Réaction de Neufeld ou réaction de gonflement de la capsule ……..14

IV.2.Epidémie des infections urinaires nosocomiales a *Klebsiella pneumoniae* ..15

V. Resistance de *Klebsiella Pneumoniae* aux Antibiotiques …….16

V.1. Les antibiotiques ……16

V.1.1.Définition …….16

V.3.1.Resistance naturelle …….16

V.3.2. Résistance acquise ……..17

V.4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux β-lactamines …….17

V.4.1. Mécanismes de résistance ……..17

V.5. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux aminosides ……20

V.6. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones……..21

V.6.1. Résistance par la modification de la cible …….21

V.6.2. Résistance par défaut d'accumulation …….21

V.6.3. Résistance plasmidiques aux quinolones …….21

V.7. Epidémiologie de la résistance des souches *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques ……22

V.7.1. Epidémiologie des souches de *K. pneumoniae* productrices de β-lactamases à spectre élargi ……..……22

V.7.2. Prévalence de *K. pneumoniae* productrice de _-lactamase à spectre élargi en milieu hospitalier …….23

Partie II : Matériels et méthodes

I.1. Objectif du travail ……..26

I.2. Lieu d'étude ……26

I.3. Type d'étude ……...26

I.4. Population étudiée ……..26

I.4.1.Critères d'inclusions…….26

I.4.2.Les critères d'exclusion…….26

I.4.3.Les services hospitaliers……27

I.5. Matériel ……27

I.5.1.Instruments et appareillages ……27

I.5.2. Réactifs utilisés ……27

I.5.3. Milieux de culture ……27

I.5.4. Les antibiotiques …….27

II. METHODES ……28

II .1.Recueil des données……28
II.2. Prélèvements ……..28
II.3. Acheminement……29
II.4. Renseignement accompagnant le prélèvement……29
II.5. Examen des urines ……29
II.5.1.Examen macroscopique……..30
II.5.1.Examen microscopique……30
II.5.1.1 Examen cytologique……..30
II.5.1.2. Examen bactériologique……..30
II.6. Isolement ……...31
II.7. Purification et identification……31
II.8. Critères d'identifications de *Klebsiella pneumoniae* ……..*31*
II.8.1.Identification par les testes biochimique ……31
II.8.2. Galerie API 20E……31
II.9. Antibiogramme ……32

Partie III : Résultats et Discussion

I. Prélèvements ……35
I.1.Distribution globale des patients selon le service……35
I.2.Distribution globale des patients selon le sexe……....35
I.3.Distribution globale des patients selon le type d'admission……36
I.4.Distribution globale des patients selon tranche d'âge……..36
I.5.Distribution globale des patients selon la pathologie du diabète……..37
I.6.Distribution globale des patients selon la pathologie cardiaque……38
I.7.Distribution globale des patients selon la pathologie rénal et /ou des voix urinaires ……38
I.8.Distribution globale des patients selon la pathologie de prostate……39
I.9.Distribution selon le motif d'hospitalisation……40
II. Analyse des prélèvements au laboratoire……..40

II.1. Examen macroscopique ……40
II.2. Examen microscopique ……41
II.2.1. Etat frais ……41
II.2.2.Coloration de Gram ……41
II.3.Identification des souches……..42
II.3.1Galeries classique ……..…..42
II.3.2.Galeries API 20 E ……...42
III.4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques……..……42
I.10.Distribution global selon l'agent causal ……43
IV. Discussion……..43
Conclusion
Référence bibliographique
Les annexes

Résumé :

Les infections nosocomiales ont constitué pendant longtemps un fléau mondial dans les pathologies médicales. Ces infections dues à des germes autrefois réputés non pathogènes ou saprophytes. Un des exemples le plus frappant pour illustrer ce propos est *Klebsiella pneumoniae* **.**

Cette étude a vise premièrement a évaluer le taux d'incidence des infections urinaires nosocomiales deuxièmement a évaluer les caractéristiques générales des patients hospitalisés aussi pour identifier les facteurs de risque susceptible d'augmenter le risque d'avoir une infection urinaire chez les malades hospitalisés dernièrement pour identifier les souches de *Klebsiella pneumoniae* .

La démarche expérimentale a été élucidé comme suivantes : il s'agit d'une surveillance de tous les nouveaux malades admis aux services de Médecine interne et Chirurgie générale (femme, homme) . Nous avons réalisé 2 ECBU pour chaque patient (le premier ECBU a été realise durant le premier jour d'admission et l'autre le 4 éme jours d'hospitalisation), parmi ces malades nous avons pu prélever 77 échantillons d'urine. Par la suit une étude macroscopique et microscopique des urines a été réalisé ainsi l'dentification des souches *Klebsiella pneumoniae a l'aide de la galerie API* 20^{E} *ainsi.* Enfin des tests de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé.

Les résultats issus de cette étude ont montré que cette souche a présenté un fort taux de sensibilité aux β-lactamines: CTX/CR-IMP- ,aminosides :GM- et aux Colistine CS.Une resistance aux β-lactamines :AM,AMC,CZ/CN, aux quinolones :CIP et aux Furanes (FT)

Finalement, l'enquête que nous avons effectué montre que le taux des infections urinaires nosocomiales causées par *klebsiella pneumoniae* est très faible et les statistiques ne sont pas alarmantes.

Les mots clés : klebsiella pneimoniae, infection urinaire nosocomiale, identification, examen cytobactériologique des urines, Antibiogramme.

Abstract

Nosocomial infections have long been a global scourge in medical pathologies. These infections are caused by germs once considered to be non-pathogenic or saprophytic. A striking instance of such infections is that of *Klebsiella pneumoniae*.

The aim of this study is three-fold: First, to evaluate the incidence rate of urinary tract infection and the general characteristics of hospitalized patients. Second, to identify the factors that may increase the chance of getting an UA among hospitalized patients .Third, to indentify the strains of *Klebsiella pneumoniae*.

In order to achieve the afore-mentioned aims, we have conducted an experiment .This latter consisted of several steps .First, we have observed the patients admitted to IM and Ch departments (men and women) .Then, we carried out two ECUBs for each patient (while the first one was performed on the first day of the admission, the second one was done).

The fourth day of hospitalisation. After that ,we have collected 77 urine samples. Next ,we have identified the stains of *Klebsiella pneumoniae*. Finally, sensitivity analysis were performed .

Finally, the survey we carried out shows that the rate of nosocomial urinary infections caused by *Klebsiella pneumoniae* is very low and the statistics are not alarming.

Keywords : *Klebsiella pneumoniae*, nosocomial infections, cytobacteriological analysis of urines, Antibiogramme.

ملخص

عرف المجتمع الإصابة بالعدوى منذ وقت طويل فهي واحد من الآفات العالمية في المراض الطبية.

تنتج هذه الالتهابات عن طريق الجراثيم التي تعتبر مرة واحدة مسببة للأمراض وتعد الكلبسيلة الرئوية من اكثر الامثلة توضيحا لهذه العدوى الهدف من هذه الدراسة هو تقييم معدل الإصابة بالتهابات المسالك البولية إضافة إلى تقييم الخصائص العامة للمرضى في المستشفيات وتحديد عوامل الخطر التي قد تزيد من خطر الإصابة بالعدوى البولية والتعرف على سلالات الكلبسيلة الرؤوية.

تم توضيح المنهج التحريري على النحو التالي:

تمت مراقبة جميع مرضى الجدد المقبولين في مصلحة الطب الداخلي والجراحة العامة(رجال و نساء).

قمنا بتنفيذ 2 ECBU لكل مريض:

ECBU الاول أجري في اليوم الاول من دخوله أما ECBU الثاني فأجرينا في اليوم الرابع .

من بين هؤلاء المرضى تمكنا من جمع 77 عينة بول معتمدين على الملاحظة العينية (العينة المجردة) والمجهرية ومن اجل تحديد سلالة هذه البكتيريا استخدمنا GALERIE AP20E ثم اجرينا اختبارات نكشف عن مدى حساسية هذه البكتيريا من المضادات الحيوية أظهرت النتائج ان هذه البكتيريا حساسة لهذه المضادات التي سيلي ذكرها:

B LACTAMINES (CTX/CR),(IMP) , AMINOSIDES (GM), DIVERS (CS)

ومقاومة لـ .AMC,CZ/CN,CIP ,FT.

وفي الاخير بينت هذه الدراسة أن معدل إلتهابات المسالك البولية التي تسببها (الكلبسيلةالرؤوية) منخفضة جدا والإحصاءات لا تثير القلق.

الكلمات المفتاحية : الكلبسيلة الرئوية ،التهابات المسالك البولية ،تحديد، تحليل سيتو بكتيريولوجي للبول ، أنتيبيو غرام

Introduction

Introduction

Les infections nosocomiales prennent actuellement une très grande ampleur dans les pathologies médicales. Elles sont connues depuis longtemps, et depuis l'utilisation des antibiotiques, elles ont progressivement changé de visage et les cliniciens ont été confrontés à des infections à germes autrefois réputés non pathogènes ou saprophytes. Un des exemples le plus frappant pour illustrer ce propos est *Klebsiella pneumoniae***.**

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans des infections sévères notamment des infections urinaires (IU), des pneumonies et des bactériémies **(Berrazeg, M.2013).** Elle est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales **(HennequinC.2007)**.

Elle occupe la deuxième place après E .coli parmi les bactéries responsables d'infections des voies urinaires chez les personnes âgées. Il s'agit également d'un agent pathogène opportuniste pour les patients souffrant de maladie pulmonaire chronique, de pathogénicité entérique, d'atrophie de la muqueuse nasale. Les excréments sont la source la plus importante d'infection du patient, suivis du contact avec des instruments contaminés. (**Groopman, J (2008-08-11))**

De nombreuses épidémies nosocomiales causées par cette bactérie ont été décrites, notamment chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli. Elle peut se propager rapidement entre les patients hospitalisés surtout dans des unités de soins intensifs adultes (**Maltezou, H).**

K*lebsiella pneumoniae* est une entérobactérie qui fait partie des espèces commensales, c'est-à-dire des flores normales du sujet sain. Elle résiste à la majorité des antibiotiques utilisés et rend ainsi difficile le traitement. Ceci pose un problème de santé publique car la population touchée est fragile (cancéreux, cirrhotiques, diabétiques, vieillards et nourrissons), surtout avec la problématique du VIH. L'augmentation à l'échelle mondiale de la résistance aux antibiotiques médiée par cette bactérie constitue une menace importante pour la santé publique. Au niveau national, et selon le réseau de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques **(AARN, 2011)**, sur 5922 bactéries multi résistantes (toutes espèces confondues) isolées en milieu hospitalier, *57%* des souches de *Klebsiella pneumoniae* sont résistantes aux β-lactamines par production de β-lactamases à spectre élargi.

C’est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a pour objectifs:

Notre premier but était d’évaluer le taux d’incidence des infections urinaires nosocomiales et cela par l’évaluation des caractéristiques générales des patients hospitalisés, l’identification des facteurs de risque susceptible d’augmenter le risque d’avoir une infection urinaire chez les malades hospitalisés et l’identification des germes en cause, et ceux résistant aux antibiotiques.

Partie I : Recherche bibliographique

Généralités

I. Les infections :

I.1.Définition de l'infection urinaire :

L'infection urinaire est définie par la présence d'un nombre significatif de germes dans les urines (bactériurie) associée à des signes fonctionnels urinaires avec éventuellement leucocyteurie (voie pyrie) tels que des brûlures mictionnelles, une pollakiurie (mictions anormalement fréquentes et peu abondantes), une impériosité des besoins mictionnels, etc.

Elle regroupe un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants du tractus urinaire ou de ses annexes : rein, vessie, urètre ou prostate chez l'homme. **(Murray P. D et Gimenez F , 2008).**

Les micro-organismes retrouvés le plus fréquemment chez les patients présentant une infection urinaire sont décrits comme uropathogènes**. (Hannedouche T , 2000).**

Ceci inclut :

- ✓ **Les bacilles à Gram négatif**

La plupart des infections du tractus urinaire sont dues à la propagation par voie ascendante des bactéries d'origine intestinale d'où la prédominance des entérobactéries au sein desquels : (**Colasson F,1981)** .

- ✓ *Escherichia coli* est le plus souvent mis en cause 60 à 80 %).
- ✓ *Proteus* (*Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Proteus rettgeri*).
- ✓ *Klebsiella* (*Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca*).
- ✓ *Enterobacter* (*Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes*,…).
- ✓ *Providencia stuartii.*
- ✓ *Morganella morganii.*

- ✓ **Les Cocci à Gram Positif**

Les infections urinaires à Cocci Gram Positif sont rares. Les plus répondu sont :

- ✓ *Staphylocoques : S. saprophyticus, S. haemolyticus, S. epidermidis et S. aureus.*
- ✓ *Streptocoques* des groupes D sont rares. **(Colasson F, 1981)**

- ✓ *Streptocoques* des groupes B.

I.2. Définition de l'infection nosocomiale :

On appelle infection nosocomiale (du grec, nosos : maladie et komein : se soigner*)* **(LIBRAIARIE, 1980)** toute infection contractée à l'hôpital. Le mot contractée à l'hôpital exclut les infections existant ou en incubation à l'entrée à l'hôpital et incluent certains infections s'expriment après la sortie. Le délai d'acquisition minimum est fixé arbitrairement à 48 heures entre l'admission à l'hôpital et les premiers symptômes. Ce délai correspond à la durée d'incubation minimum d'une infection aiguë liée à une bactérie à croissance rapide. Il est fixé de façon arbitraire afin de faciliter le tri entre infection communautaire et infection nosocomiale **(BORREL, 2000).**

Certaines infections se manifestent même après plusieurs mois suivant l'hospitalisation ce sont les infections lentes. Les infections rapides sont celles qui apparaissent après une période d'incubation relativement courte **(HYGIE, 1987; BENCHABAANE, 2003).**

II. Généralités sur *Klebsiella pneumoniae* :

II.1. Dénomination :

Le nom *Klebsiella* provient du nom du bactériologiste Klebs, 1877 et l'espèce type dénommée « pneumobacille » par Friedlander qui l'a décrit comme agent de pneumonies mortelles pendant la période 1882- 1884. **(DUCA E, 1979)**

II.2.Position taxonomique :

Selon la classification de la 2ème édition de Bergy's manuel *Klebsiella pneumoniae* appartienne au domaine : Bactéria ,phylum Proteobacteria; classe Gammaproteobacteria;ordre Entérobactériale;famille *Enterobacteriaceae* et du genre *Klebsiella.*

Le genre *Klebsiella* (Klebsielles) comporte cinq espèces dont l'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* . (**Bergogne-Berézin E, 1995) .**

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est subdivisée en 3 sous espèces : *Klebsiella pneumoniae* subsp pneumoniae, *Klebsiella pneumoniae* subsp ozaenae et *Klebsiella pneumoniae* subsp Rhinoscleromatis. **(Avril. J.L, 2000).**

II.3.Caractères bactériologiques :

1.Caractères morphologiques :

Les *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente), toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli* (0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0 µm de longueur), très souvent encapsulées. Cette capsule de nature polysaccharidique contient des acides hexuroniques (acides glycuronique et galacturonique) et de 2 à 4 sucres (galactose, glucose, mannose, fucose, rhamnose). La taille des capsules va en croissant de *Klebsiella oxytoca* (20 à 25 % de souches non capsulées) à *Klebsiella pneumoniae* (5 % environ de souches non capsulées). La culture sur milieu sucré, tel que le milieu hypersaccharosé de Worfel-Ferguson favorise la formation de capsules. Au contraire, l'évolution vers des formes non capsulées peut être obtenue par croissance en bouillon bilié à 50 % **(Richard et Grimont, 1992).**

2.Caractères biochimiques :

Les *Klebsiella pneumoniae* sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, oxydase négative, catalase positive, VP +, RM -, uréase + lentement (uréase moins active que celle des *Proteus*), ONPG +, β-xylosidase +, H_2S -, indole -, LDC +, ODC -, lipase, DNase et gélatinase -, KCN +, fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de Simmons et le malonate. **(Jarlier et Nordman, 2000 ; Nauciel, 2000).**

Tableau 1 : Principaux caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* (Joly et Reynaud, 2002).

Glucose	Indole	ONPG	Gaz	Mobilité	VP	RM	TDA	H2S	ODC	ADH	LDC	Citrate
+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+

Certaines souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Klebsiella oxytoca* peuvent paraître « uréase - » après 24 heures à 37°C si on utilise des cultures sur gélose nutritive et un milieu réactif à l'urée du type Ferguson (par exemple, milieu « urée-indole ». **(Joly et Reynaud, 2002) (Courvalin et Phillippon, 1989).**

3.Caractères culturaux :

Sur les milieux classiques d'isolement pour les entérobactéries (Drigalski, EMB, Hektoen, Mac Conkey), les colonies de *Klebsiella pneumoniae* sont lactoses

positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine (**Le Minor et Véron, 1989 ; Freney et Bollet, 2000)**, d'un diamètre de 3 à 4 mm en 18 à 24 heures à 37°C.

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30°C et 37°C pour *Klebsiella pneumoniae*

A la différence des autres espèces de *Klebsiella,* plus de 90 % des souches de *K.pneumoniae* croissent à 44°C en bouillon lactosé bilié vert brillant et plus de 80 % en fermentant le lactose avec production de gaz (test des « coliformes fécaux » positif) **(Le Minor et Véron, 1989)**.

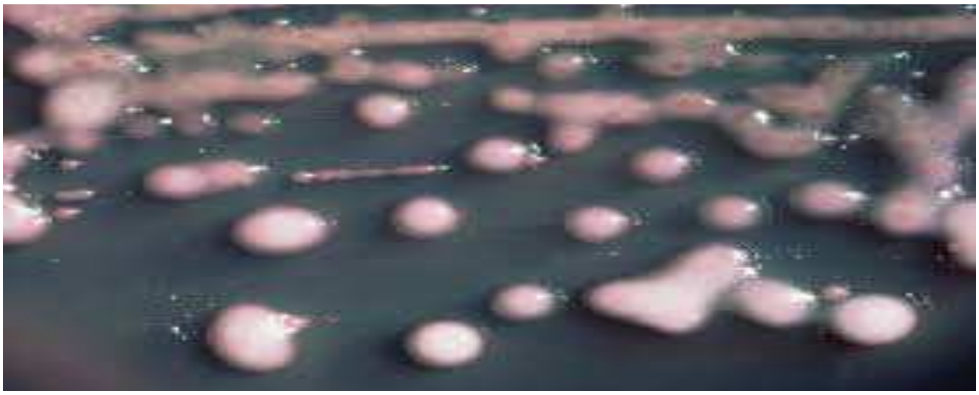


Figure 1 : Aspect des colonies de *K. pneumoniae* sur milieu gélosé (Gueye, 2007).

4.Caractères antigéniques :

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 moi 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**.(Freney J,2000) (Le Minor L et Véron M, 1989).**

II.4.Habitat :

Klebsiella pneumoniae est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux , et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures et elle est isolée des selles chez 30 % des individus. Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales**.** Les deux sous-espèces *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* et *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* n'ont été isolées qu'en situation pathogène de l'arbre respiratoire de l'homme. **(Baerwolf S, 2002).**

II.5. Les sources de contamination :

Le milieu extérieur est la principale source de contamination. Le réservoir naturel du germe est constitué par les eaux usées, les végétaux et les effluents industriels **(DAVID Ti , 1974).**

En milieu hospitalier, les mauvais systèmes de canalisation, les lavabos mal nettoyés, le matériel d'anesthésie, la réanimation ,les ventilateurs, les aspirateurs, , les aiguilles et cathéters veineux ,urinaires et cardiaques, les blaireaux utilisés pour le rasage, sont des sources d'infections **(Bull. Soc , 1987) (DUCKNALL RA , 1986).**

Il en est de même pour les désinfectants employés sur les plaies en pré ou post opératoire, ou au cours de pansement, ou encore pour la stérilisation d'instruments. Ces désinfectants sont souvent des dérivés du chloreximide, del'héxachlorophène etc. **(G1BERT.C, 1975).**

La source secondaire de contamination est le malade lui-même par ses urines **(JARVIS .WR, 1985).**

II.6. Les modes de transmission :

Les surinfections à *Klebsielles* sont le type même d'infections hospitalières.

Tout entrant à l'hôpital est porteur de ses propres flores composées de germes commensaux, parasites et éventuellement pathologiques. Au cours de son séjour à l'hôpital ces flores vont changer, en recevant des apports ou en subissant des pertes **(LE MINOR L.1962).**

II.7.Les vecteurs d'infections :

La prolifération microbienne s'étend non seulement aux malades hospitalisés, mais aussi aux malades externes (qui viennent en consultation) et à tout le personnel hospitalier **(MESTA A.M, 1985).**

II.8.Pouvoir pathogène :

Klebsiella pneumoniae est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales en général et néonatales particulièrement **(Boukadida et al, 2002)**.

Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (IU) **(Ben Haj Khalifa et al, 2010 ; Struve et al, 2012).**

II.8.1. Pouvoir pathogène naturel :

Les infections dues aux *klebsielles* et aux bacilles à Gram négatif en général occupent une place très importante surtout en milieu hospitalier dans les infections nosocomiales.

Klebsiella pneumoniae et *Klebsiella oxytoca* sont principalement isolées chez l'homme de Broncho pneumopathies algues et sub aigues (en particulier *Klebsiella pneumoniae* types capsulaires 1 et 2), d'infections urinaires **(ORSKOV.L, 1952)(REID ;RAPHAEL, 1985)** secondairement d'infections hépato vésiculaires, de pus divers, d'infections péritonéales post opératoires.

Les septicémies à *Klebsiella* sont de pronostic sévère**.,(LSJOBER6., I.B.R.DUNCAN 1978)**., elles surviennent chez des malades débilités, hospitalisés dans les unités de soins intensifs et les services de réanimation c'est à dire chez les cancéreux, cirrhotiques, diabétiques, brûlés, vieillards, prématurés, nourrissons ; elles ont souvent pour point de départ une infection urinaire**.(RICHARD.C, 1982) (SUZUKI.K, 1964),** ont montré le caractère endogène d'infection à *Klebsiella* chez des malades dont le tube digestif était colonisé par ces bactéries. Quelquefois les Klebsielles sont introduites dans le courant circulatoire à la suite de la pose d'un cathéter veineux, d'une sonde vésicale, à la faveur d'une intubation trachéale ou d'une dialyse péritonéale **(LE MINOR.L, 1980).**

Les souches de Klebsielles les plus potentiellement pathogènes pour l'homme, appartiennent aux types capsulaires 1 et 2, plus rarement aux types 3 et 4 **(RICHARD.C, 1982).**

II.8.2.Pouvoir pathogène expérimental :

Seules les *K. pneumoniae* des types capsulaires 1 et 2 sont pathogènes pour l'animal : singe "écureuil" inoculé par voie intra trachéale, rat par instillation intra nasale ou par aérosol, souris par voie intra péritonéale (DL50 ; 10 bactéries pour les souches les plus pathogènes).

Les Klebsielles sont difficilement phagocytées à cause de leur capsule polysaccharidique **RICHARD.C, 1982).**

II.9. Facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae :*

Les termes facteurs de pathogénicité et facteurs de virulence sont souvent utilisés comme synonymes. Mais certains auteurs font une distinction claire entre les deux : le terme pathogénicité définit la capacité de la bactérie à causer une maladie alors que la virulence est la mesure ou le degré de pathogénicité **(Podschun. R et U. Ullmann, 1998)**

II.9.1. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS est formé de plusieurs composés : le lipide A de structure oligosaccharidique et l'antigène "O". L'antigène "O", composé le plus externe du LPS, est formé d'unités répétées de polymères d'oligosaccharides. Le lipide A correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif et participe au pouvoir pathogène. Sa libération massive dans la circulation au cours des bactériémies conduit au choc endotoxinique. Le rôle principal du LPS in vivo est de protéger *K. pneumoniae* du pouvoir bactéricide du sérum **(Dabernat et Schlemmer, 1997).**

II.9.2. La capsule

La capsule a été le premier facteur de virulence décrit **(Hennequin et *al.*, 2012 ; Hsieh, 2012**). Elle confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif en protégeant les bactéries de la phagocytose et du pouvoir bactéricide du sérum **(Lai et al., 2000; Held et al., 2000 ; Ofek et al., 2001)**. C'est une véritable enveloppe de nature polysaccharidique présentant un antigène K **(Hennequin et *al.*, 2007)**. In vitro, la présence d'une capsule diminue l'attachement aux cellules intestinales HCT-8 et aux cellules vésicales T-24. Toutefois, in vivo la capsule n'inhibe pas la colonisation

de l'intestin et elle semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires. Divers modèles expérimentaux montrent qu'il existe une relation entre la taille de la capsule et l'intensité du pouvoir pathogène. Parmi les 77 sérotypes capsulaires K1, K2, K4 et K5 sont les plus pathogènes **(Fung et Chang, 2000 ; Lai et al, 2000).**

II.9.3.Adhésines :

Les adhésines sont des facteurs d'adhésion produits par la majorité des souches dont deux types ont été mis en évidence chez des souches pathogènes pour l'homme : les pili de type 1 et de type 3 qui permettent l'adhérence de la bactérie à la face baso-latérale des cellules trachéales et bronchiques et une adhésine non filamenteuse (adhésine CF 29 K) qui permet l'adhérence de la bactérie aux cellules intestinales et uro-épithéliales **(Joly et Reynaud, 2002 ; Hennequin et *al.*, 2007)**. *K. pneumoniae* peut produire des fimbriae de type 1 qui semblent être impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales **(Hennequin et *al*, 2007)**. Elle peut également produire des fimbriae de type 3 **(Stahlhut, 2012 ; Aartsen, 2012)** dont l'importance in vivo est mal connue, mais qui pourraient permettre un attachement sur des surfaces inertes comme du matériel médical **(Lai et al., 2000 ; Di-Martino et al., 2003; Riegel 2003)**, dans une étude au Danemark, montrent que le genre fimbriae type 1 est un facteur significatif dans les infections du tractus urinaire.

II.9.4. Le fer

Il joue un rôle essentiel dans la croissance et la multiplication bactérienne et la majorité des bactéries pathogènes ont développé des systèmes de captation du fer. Les souches de *K. pneumoniae* sont aptes à synthétiser des sidérophores de type aérobactine (hydroxamate) et entérochéline ou entérobactine (phénolate) qui favorisent la multiplication bactérienne dans les tissus **(Joly et Reynaud, 2002)**. Grâce à ces sidérophores, environ 97 % des souches de *K. pneumoniae* utilisent l'hémoglobine et 56% utilisent l'hémoglobine liée à l'haptoglobine **(Fauchère et Avril, 2002)**. La grande majorité des souches synthétise de l'entérobactine. Son rôle dans la virulence est mal connu. Dans le sérum, ce sidérophore est inactivé par l'albumine et les IgA. Cependant, l'entérobactine semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires **(Euzéby, 2004)**. L'aérobactine est produite par environ 16% à 50% des souches.

II.9.5.Pili (*fimbriae)*

Les pili sont des projections filamenteuses situées à la surface de la bactérie qui permettent un rapprochement étroit puis une fixation aux cellules hôtes. Différents types de pili sont décrits dont deux prédominent chez *Klebiella sp.Klebiella pneumoniae* peut produire des *fimbriae* de type 1qui semblent impliqués dans l'attachement aux cellules citiées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales. Elle peut également produit des *fimbriae* de type 3 dont l'importance *in vivo* est mal connue mais qui pourraient permettre un attachement sur des surface inertes comme du matériel médical **(El Fertas-Aissani.R et Messai.Y, 2012),** comme le montre à la figure 2.

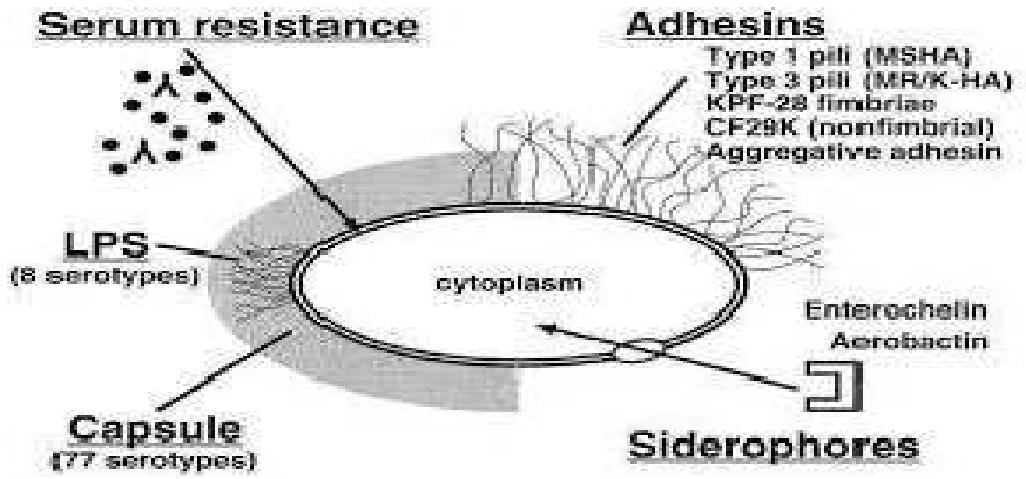


Figure 2 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de *K. pneumoniae* (Podschun et Ullmann, 1998).

III. Examen Cytobactériologique des Urines (E.C.B.U) :

III.1.Diagnostic :

L'infection des voies urinaires se traduit sur le plan clinique par les symptômes variés en fonction de leur intensité ou de leur nature.

- ✓ **La fièvre :** soit simple élévation thermique a 38 -38.5 , irrégulière traduisant alors une bactériémie ;Soit température à 40 ,voire hypothermie à 36 dans les septicémie à germes gram - , courbe thermique d'allure pseudo-palustre dans le cadre des septicémies par germes urinaires : elle témoigne de l'atteinte d'un parenchyme (rein, prostate , testicule ,épididyme)
- ✓ Brulure mictionnelle ou cystite : toute lésion infectieuse des organes urinaires peut être à l'origine de cystite**.(A. Haertig, P. Conort 1991)**

III.2.Examen des urines :

C’est l’Examen cytobactériologique des urines (ECBU), pratiqué avec une technique rigoureuse pour éviter la souillure naturelle de l’urine à sa sortie du méat qui :

- ✓ D’une part affirmera le diagnostic d’infections urinaire ;
- ✓ D’autre part identifiera le germe en cause, permettant la réalisation d’un antibiogramme et d’un traitement adapté.
- ✓ Pour qu’il y ait une infection urinaire, il faut qu’existe l’association d’une pyurie, c’est-à-dire d’une hyperleucocyturie (leucocytes altérés, et d’une bactériurie. **(A. Haertig, P. Conort , 1991).**

III.2.1. Hyperleucocyterie :

Normalement le débit des leucocytes dans les urines ne dépasse pas 2000 par minute ; lorsque le débit leucocyturique est important, il s’agit de pyurie, visible à l’ œil nu sous forme d’urines troubles.

La numération des leucocytes au microscope peut s’effectuer par champ, la présence de plus de cinq leucocytes par champ est synonyme de pyurie

Bactériurie ou concentration bactérienne d’urine :

La numération de nombre de colonie et leur identification constitue le second temps de l’ECBE.

Une concentration bactérienne dépassant 10^5 à 10^6 par millilitre répand a une bactériurie pathologique, en effet, le comptage de quelques colonies (10^2 et 10^3) ne permet pas d’affirmer une infection urinaire importante, mais peut être en rapport avec des souillures lors du prélèvement d’urine.

Après le comptage des colonies, il convient de procéder à l’identification des bactéries (antibiogramme).

Parmi les germes responsables, ce sont les germes Gram – qui sont le plus souvent rencontres dans les urines infectées : *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae , citrobacter , proteus et pseudomonas aeruginosa*. **(A. Haertig, P. Conort , 1991).**

III.3.Examen cytobactériologique :

III.3.1. Examen macroscopique :

Homogénéiser l'urine par retournement du flacon et noter l'aspect limpide ou trouble et la présence d'une éventuelle hématurie. **(A. Haertig, P. Conort , 1991).**

III.3.2 Examen microscopique :

Il comprend un examen cytologique et un examen bactériologique.

III.3.2.1. Examen cytologique :

L'examen en cellule de Malassez permet de dénombrer les éléments figurés contenus dans un volume donné de l'urine à étudier. Leur concentration est exprimée par millilitre (mL).

Cette technique est préférable à l'examen de l'urine entre lame et lamelle qui conduit à un résultat rendu en croix ou par champ microscopique, moins reproductible et plus difficile à interpréter, car soumis à l'appréciation de la personne qui réalise l'examen.

Une urine non infectée contient moins de 10 000 leucocytes et moins de 5 000 hématies par mL.

Une infection urinaire se traduit le plus souvent par la présence de :

- 50 000 leucocytes/ mL, parfois en amas.
- 1 0 000 hématies/ mL.
- la présence de cylindres leucocytaires est importante à prendre en compte .
- la notion d'altération des leucocytes n'apporte pas d'informations complémentaires.

La présence de nombreuses cellules d'origine vaginale doit évoquer une contamination et entraîner éventuellement le rejet de l'examen. **(A. Haertig, P. Conort , 1991).**

III.3.2.2. Examen bactériologique :

L'examen du frottis du culot de centrifugation coloré au Gram permet d'observer les microorganismes présents, et d'orienter éventuellement le choix des milieux de culture dans certains cas particuliers.

Cet examen permet au biologiste de donner très rapidement une orientation sur la bactérie responsable, utile pour le choix du traitement de première intention. **(A. Haertig, P. Conort, 1991).**

IV. Epidémiologie :

IV.1.Marqueurs épidémiologiques :

Les types antigéniques capsulaires et les biotypes sont les marqueurs épidémiologiques les plus employés, leur combinaison permet de définir des variétés de klebsielles.

IV.1.1.Biotype :

Pour suivre les épidémies hospitalières, il est nécessaire d'utiliser le système de biotypie**.(BASCOMB.S, 1971).**

La biotypie est basée sur l'aptitude à utiliser des substrats carbonés permettant une discrimination entre les souches d'une même espèce.

Dans le genre *Klebsiella* différents schémas de biotypes ont été proposés, les fermentations du dulcitol, du sorbose, le catabolisme du d. tartrate, secondairement du rhamnose et de l'adonitol permettent de définir des biotypes et au total 11 biotypes ont été individualisés.

IV.1.2.Sérotype :

La recherche des antigènes K est indispensable à toute enquête épidémiologique, leur détermination est la méthode la plus discriminante. Il existe en effet 77 types capsulaires différents (K1 à K72, K74, K79 à K82). Ces antigènes capsulaires K présentent entre eux de nombreuses communautés antigéniques, ce qui rend nécessaire l'adsorption des sérums pour les rendre spécifiques. **(Richard.C, 1973)**

Plusieurs techniques de typage antigénique capsulaire peuvent être utilisées :

IV.1.2.1. Réaction de Neufeld ou réaction de gonflement de la capsule :

Cette méthode reste la plus employée. Elle consiste à rechercher au microscope à contraste de phase une réaction antigène-anticorps anti capsulaire (Une goutte d'une suspension à peine opalescente d'une culture sur le milieu de Worfel-Ferguson est mélangée à une goutte de sérum anti capsulaire, soit sérum mélange, soit sérum

monovalent brut ou adsorbé). Une réaction positive se traduit par une opacification de la capsule et son léger gonflement ; en cas de réaction négative, seul le corps bacillaire reste visible au microscope**.(CARBONNELLE ,1987) (Richard.C,1973)**

Autres méthodes de typage capsulaire utilisées

Parmi elles, on peut citer :

- ✓ L'immunofluorescence indirecte à pH 9. (**ORSKOV.I, 1957)**
- ✓ L'immunoélectrophorèse à contre-courant.(**PAISREYMAN JUDITH.M, 1978)**

Il existe des communautés antigèniques K capsulaires entre *Klebsiella pneumoniae* ; *Streptococcus.pneumoniae et Escherichi coli* et d'autre enterobacteries capsulées.

IV.2.Epidémie des infections urinaires nosocomiales a *Klebsiella pneumoniae* :

Klebsiella Pneumniae est aujourd'hui surtout reconnue comme responsable d'infections nosocomiales (infections urinaires, intra-abdominales, infections de site opératoire, septicémies, pneumonies). En Europe comme aux Etats Unis, environ 8% Des infections nosocomiales sont dues à cette espèce. En France , le rapport de l ONERBA (Observatoire national de l' Epidémiologie de la résistance bactérienne aux Antibiotiques) de 2008 indique que *Klebsiella Pneumoniae* est responsable respectivement de 4,8% et 4,5 % des bactériémies communautaires et nosocomiales , ce qui la place 3 rang des bacilles à Gram négatif après *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* .**(Bennet.R ,M.Eriksson, 1985)**

Klebsiella Pneumniae est la principale espèce bactérienne responsable d épidémies intra – hospitalières. Depuis Janvier 2006, date de notre premiére publication sur ce sujet (139), ils ont analysé 85 publications descriptives référencées dans pubMed en tapant les mots clés (*Klebsiella pneumoniae* and nosocomial outbreak (s))

Les pays le plus concernés par ces problèmes sont : les Etats Unis (0=11 publications), la Grèce (n=10) , Espagne (n=9) ,Amérique du sud (n=9) Italie et la

France (n=7) , Israël (n=4) , Corée (n=3) Chine (n=2) . Le nombre de cas rapportés par épidémie varie de à 161. Dans 25% des cas les services concernés sont des unités de soins intensifs adultes ou de néonatologie . **(kassis-Chikhani, 2006)**

V. Resistance de *Klebsiella Pneumoniae* aux Antibiotiques :

V.1. Les antibiotiques :

V.1.1.Définition :

Agents antibactériens synthétiques et/ou semi-synthétiques. Le mot antibiotique fut crée en 1889 par Paul Vuillemin. Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de microorganismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémi synthèse **(Bryskier A. 1999).**

V.2. Notion de la résistance bactérienne :

Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique nettement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres bactéries de la même espèce. **(Carl, 2009).** La résistance bactérienne est à différencier de la résistance clinique qui est la non réponse au traitement, responsable de l'échec thérapeutique.

V.3. Types de résistance aux antibiotiques :

L'efficacité de l'antibiotique dépend d'au moins trois facteurs : la quantité d'antibiotique au contact de la cible, l'affinité de l'antibiotique pour la cible et la production d'enzymes inactivant l'antibiotique. Ces facteurs sont responsables soit d'une résistance naturelle, et donc présents chez toutes les souches de l'espèce, soit d'une résistance acquise par certaines souches, suite à l'apparition de mutations chromosomiques ou à l'acquisition de matériel génétique tels que des plasmides, des transposons ou des intégrons **(Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie, 1997).**

V.3.1.Resistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les cellules de toutes les souches. Elle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. La résistance naturelle a pour support

génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques **(Fauchère et Avril, 2002).**

Les mécanismes de la résistance naturelle peuvent être l'imperméabilité de la paroi bactérienne ou la synthèse d'enzymes naturelle chromosomiques. *K. pneumoniae* est naturellement résistante aux aminopénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une β-lactamase de classe A d'espèce (chromosomique) du groupe fonctionnel 2a, inhibée par l'acide clavulanique (exemple : *Klebsiella pneumoniae* 1189) **(Haeggman, 1997 ; Chaves, 1995).**

V.3.2. Résistance acquise :

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien par l'acquisition des nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome, soit par transfert d'ADN de plasmide conjugatif ou de transposons **(Yala et Ouar, 2001).**

De nombreuses souches de *K. pneumoniae* résistent aux inhibiteurs des beta-lactamases (des beta-lactamases de classe A de type IRT insensibles à l'acide clavulanique (mutants d'enzymes TEM) ont été décrites) **(Lemozy, 1995 ; Bermudes, 1997)**.

V.4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux β-lactamines :

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les *K. pneumoniae* vue leur diversité, faible toxicité, activité bactéricide et large spectre d'action. Elles comprennent les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes, et ont toutes en commun le cycle β-lactame **(Bryskier, 1984).**

V.4.1. Mécanismes de résistance :

La résistance naturelle ou acquise aux β-lactamines est caractérisée par au moins deux mécanismes qui peuvent par ailleurs être combinés : Enzymatique et non enzymatique.

a-Enzymatique :

- **Pénicillinase**

- **Phénotype pénicillinase à bas niveau**

Klebsiella pneumoniae est naturellement résistante aux pénicillines des groupes G et A et à la carbénicilline sous l'effet d'une pénicillinase chromosomique appelée SHV1. Elle est sensible aux autres antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif **(Joly et Reynaud, 2002).**

- **Phénotype pénicillinase à haut niveau**

Chez *Klebsiella pneumoniae* le phénotype pénicillinase à haut niveau se caractérise par la résistance à très haut niveau aux amino et carboxypénicillines, et par une réduction de l'activité des uréedopénicillines et des céphalosporines de première et de deuxième génération ainsi par une réduction de l'activité des pénicillines (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline et amoxicilline) associées aux inhibiteurs de β-lactamases **(Jarlier et Nordmann, 2000).**

- **Céphalosporinase de haut niveau**

Ce sont des β-lactamases plasmidique de classe C d'Ambler qui présentent une résistance à l'ensemble des β-lactamines excepté les carbapénèmes et notament aux C3G par acquisition d'un gène plasmidique (AmpC) qui a migre des espèces naturellement produtrices d'Amp C (groupe III des enterobacteries) sur des plasmides. Cette résistance a été décrite en 1990 pour la première fois avec MIR-1 chez *Klebsiella pneumoniae* **(Gueudet et al, 2009).**

Klebsiella pneumoniae, ont connait un grand nombre de β-lactamase plasmidiques de classe C qui dérivent des cephalosporinases chromosomiques. On peut citer FOX-1 et MOX-1 (homologues a AmpC de *P. aeruginosa*), et LAT-1 et CMY-2 (homologues a AmpC de *Citrobacter freundii*) **(Sougakoff et Trystram 2003).** Les premières souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* ayant acquis un plasmide codant pour une β-lactamase de classe C sont décrites en 1988 **(Cavallo et al, 2004).**

Depuis le milieu des années 1980, notamment chez *Klebsiella pneumoniae*, et presque exclusivement en milieu hospitalier, des phénotypes de résistance acquise caractérisés par une forte diminution de l'activité des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième générations et de l'aztréonam. Ces phénotypes se caractérisent de plus par une très forte synergie entre les β-

lactamines inactivées et les inhibiteurs de β-lactamases de type acide clavulanique (disque d'augmentin ou de claventin) (exemple, *K. pneumoniae* 1249). On peut noter que certaines BLSE sont caractérisées par une activité faible vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération. Dans ce cas, le niveau de résistance est bas et les images de synergies sont plus discrètes (exemple, *K. pneumoniae* 1112). Ces phénotypes sont la conséquence de la production de β-lactamases plasmidiques appelées «à spectre élargi » en raison du nombre plus élevé de substrats qu'elles sont capables d'inactiver par référence aux β-lactamases «à spectre élargi» classiques de type TEM-1 ou 2 ou SHV-1, dont elles dérivent par mutations ponctuelles **(Jarlier et Nordmann, 2000).**

Il existe un autre type de β-lactamases a spectre étendu il s'agit de CTX-M, enzymes hydrolysant le cefotaxime, la ceftriaxone plus efficacement que ceftazidime **(Gniadkowski, 2001 ; Villegas et al., 2004).** C'est une grande famille phylogenetiquement différentes de TEM et SHV, qui comprend plus de 19 enzymes **(Arafa, 2011).** En juin 2009 la dissémination de ces enzymes concerne maintenant l'ensemble des entérobactéries notamment *Klebsiella pneumoniae.* Les enzymes de type CTX-M sont divisées en 5 sous groupes phylogenetiquement différents **(Carrer et Nordmann, 2009).**

La production de β-lactamase à spectre élargi confère à *Klebsiella pneumoniae* une large résistance aux β-lactamines. Parmi ces dernières et selon la variété de l'enzyme, seuls l'imipénème et encore souvent les céphamycines demeurent stables vis-à-vis des β-lactamase à spectre élargi **(Boukadida et al, 2002).** La résistance à l'imipénème chez k.p peut être due à l'association d'une imperméabilité de la membrane externe (perte d'une porine de 42 Kda) à une production à haut niveau d'une beta-lactamase plasmidique de classe C (ACT- 1, homologue à AmpC de *E. cloacae* et MIR-1). On a également décrit au Japon une souche de *K. pneumoniae* résistante à l'imipénème et à la ceftazidime et hébergeant le gène d'une métallo-beta-lactamase IMP sur une structure de type intégron.

Les premières observations de BLSE sont décrites en Europe et rapidement après, aux Etats-Unis à partir de 1988 ou une nouvelle résistance à la ceftazidime et à l'aztréonam a permis de retrouver une nouvelle β-lactamase à transmission plasmidique chez *K. pneumoniae*. Dans des études européennes précédentes il a été

démontré que *K. pneumoniae* et *E. coli* étaient les espèces les plus fréquemment responsables de la sécrétion de BLSE **(Ben Haj Khalifa et al, 2010).**

b- Non enzymatique

- Diminution de la perméabilité

Des mécanismes de résistance aux carbapénèmes, ont été décrits combinant une céphalosporinase plasmidique (DHA-1, cmY-2…) ou une BLSE (TEM, SHV, CTX-M…) à une imperméabilité dans des espècesd'entérobactéries qui n'expriment pas naturellement de céphalosporinases comme *Klebsiella pneumoniaes, Proteus mirabilis, Escherichia coli* et *Salmonella spp*. L'analyse des propriétés biochimiques de plusieurs céphalosporinases plasmidiques montre que certaines d'entre elles ont une très faible activité de carbapénémase qui pourrait entrainer un certain degré de résistance aux carbapénèmes en association avec une imperméabilité **(Nordmann et al, 2010).**

Les souches de *K. pneumoniae* possèdent un certain degré de résistance aux céfépime et au cefpirome par imperméabilité ainsi que les souches qui produisent KPC **(Nordmann et al, 2010).**

Une résistance à l'ertapénème par perte de porine chez des souches de *K. pneumoniae* ou *d'E. coli* productrices de CTX-M et exposées à des concentrations croissantes d'ertapénème **(Grall et al, 2011).**

V.5. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux aminosides :

Comme la plupart des entérobactéries, *Klebsiella* présente une résistance aux aminosides gentamicine et à la nétilmicine alors que leur résistance à l'amikacine, ciprofloxacine est faible **(Hmamouchi et al, 2005).** La résistance acquise résulte d'une mauvaise pénétration de l'aminoside à l'intérieur de la cellule bactérienne ou de la modification enzymatique des antibiotiques par phosphorylation (APH aminoside phosphotransférase), nucléotidylation (ANT aminoside nucléotydiltransférase) ou acétylation (AAC aminoside acétyltransférase) **(Archambaud et Clave, 2008).**

En 1990 14% en moyenne des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les CHU étaient productrices de BLSE mais l'écart aller de 2 a 47% selon les centres. Leurs profil de résistance a d'autres antibiotiques que les beta-lactamines indique une

résistance aux aminosides de 74% pour l'Amikacine, de 95% pour la Tobramycine ; elle n'est que de 40 a 55% pour la Gentamycine, l'enzyme d'inactivation des aminosides produit par les *Klebsiella* étant une acétylase de type AAC6'IV qui n'active pas la Gentamycine ; celle-ci peut être inactivée par une autre acétylase de type (AAC(3)II) ou par une adénylase de type ANT (2'') produites par *Klebsiella pneumoniae*, bactérie susceptible de présenter une multi-résistance aux aminosides (kanamycine, gentamycine, tobramycine, netilmecine-R) associé ou non a la production des BLSE **(Eyquem et al., 2000).**

V.6. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux quinolones:

La résistance des bactéries, notament *Klebsiella pneumoniae*, aux fluoroquinolones est devenue préoccupante tant en milieu hospitalier qu'en médecine communautaire. Les quinolones sont des composés antibactériens de synthèse dont le chef de file, l'acide nalidixique, a été décrit en 1962 par Lesher et coll **(Lesher et Brundage, 1962).**

Chez *Klebsiella pneumoniae*, la resistance aux fluoroquinolones est limitée pour les souches sauvages a 9-10%, est très fortement associée pour les souches productrices de BLSE atteignant des taux de 80% a 97% **(Eyquem et al., 2000).** La résistance aux quinolones fait intervenir différents mécanismes, dont le mécanisme le plus fréquent et le mieux connu est la modification de la cible.

V.6.1. **résistance par la modification de la cible :**

Ce mécanisme de resistance correspondant a une modification de cible de l'antibiotique avec une altération de l'ADN gyrase (sous-unité GyrA) et de la topoisomérase (sous-unité ParC) La perte d'affinité pour la cible provient de modification structurale dans une région appelée la QRDR (Quinolone Resistance Determining Region), où sont trouvées la majorité des mutations responsables de la résistance aux fluoroquinolones **(Archamboud et Clave, 2008).**

V.6.2. résistance par défaut d'accumulation

Klebsiella pneumonoiae peut également développer une résistance aux quinolones par diminution de pénétration à travers la paroi ou par efflux actif, cette résistance par défaut d'accumulation concerne surtout les quinolones hydrophiles **(Illiaquer, 2010).**

V.6.3. résistance plasmidiques aux quinolones

Le support de la résistance aux quinolones étaient supposé être uniquement chromosomique jusqu'en 1998 ou Martinez-Martinez à découvert le premier déterminant de résistance plasmidique aux quinolones chez *K. pneumoniae* qui est un plasmide transférable (pMG252) qui héberge le gène qnr A. La protéine codée par le gène de résistance (qnr A) à été nommée QNR A, de 218 acides aminés appartenant à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés qui protège le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones. Quatre autres déterminants plasmidiques également impliqués dans la résistance aux quinolones ont été rapportés (qnr B,qnr S, qnr C et qnr D), ainsi que différents variants des protéines Qnr A et Qnr B.**(Meradi et al, 2009).** Il existe une fréquente association entre les déterminants génétiques de type Qnr et ceux des BLSE, ce qui souligne la possibilité d'une co-sélection de ces deux mécanismes de résistance plasmatique **(Ben Haj Khalifa et al, 2010).**

V.7. Epidémiologie de la résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques :

V.7.1. Epidémiologie des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β-lactamases à spectre élargi:

Au cours de ces dix dernières années, la résistance bactérienne aux antibiotiques, particulièrement par production de β-lactamases à spectre élargi (BLSE), est devenue un problème majeur de santé publique. L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE au CHNU Le Dantec, Dakar, Sénégal.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 12 mois portant sur 139 souches de *K. pneumoniae*. La détection des BLSE a été effectuée par la méthode de diffusion par double disque.

Parmi les 139 souches *de K.pneumoniae* étudiées, 44 (31,7%) étaient productrices de BLSE. Trente-trois (75%) de ces 44 souches étaient d'origine nosocomiale (p = 0,016). Ces souches étaient surtout isolées chez les patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs (USI : 45,4% ; p = 0,031) et provenaient principalement de prélèvements d'urines (59%) et de pus (25%). Toutes les souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à l'Amoxicilline, à la Pipéracilline et à la Céfalotine. La majorité des souches de *K. pneumoniae* BLSE avait en outre une résistance à l'association sulfaméthoxazole/triméthoprime (95,2%), à la Gentamicine (78,6%), à la Ciprofloxacine (67,4%) et à l'Amikacine (41%). Par contre, elles demeurent très sensibles à l'Imipenème et à la Fosfomycine.

La résistance des entérobactéries, notamment *K. pneumoniae*, aux fluoroquinolones par production de BLSE devient de plus en plus préoccupante. Ceci suggère une utilisation plus rationnelle des fluoroquinolones, en particulier dans les traitements de première intention des infections du tractus urinaire**. (Makhtar Camara, Awa Ba Diallo 2011)**

V.7.2. Prévalence de *K. pneumoniae* productrice de _-lactamase à spectre élargi en milieu hospitalier :

Des études internationales de surveillance ont confirmé l'ampleur de la production des BLSE chez *K. pneumoniae*. En effet, la prévalence mondiale des *K. pneumoniae* BLSE, entre 2005 et 2007 est passée de 19,2 à 30 % selon le programme Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) **(Hawser SP, Bouchillon SK2005-2007).** Cependant, la répartition géographique n'est pas homogène et la prévalence varie considérablement d'un continent à un autre, d'un pays à un autre et d'un CHU à un autre .La prévalence des souches de *K. pneumoniae* BLSE en Europe a été estimée à 7,2 % en 2007 selon le programme de surveillance Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) **(Turner PJ. MYSTIC Europe 2007).** Cependant, dans la plupart des pays d'Europe du Nord, ce taux reste inférieur à celui observé dans les pays d'Europe du Sud et de l'Est **(Jones CH, Tuckman M,2009) (Coque TM, Baquero F.2008).** *K. pneumoniae* est l'espèce la plus commune chez laquelle ce mécanisme de résistance a été détecté en Europe de l'Est. En effet, 36% des isolats de *K. pneumoniae* sont producteurs de

BLSE alors que seulement 10% des souches d'*Escherichia coli* le sont dans cette région **(Jones CH, Tuckman M,2009).**

Pour le reste de l'Europe, notamment en France, la production de BLSE est récemment devenue plus importante pour l'espèce *E. coli* que pour *K. pneumoniae* (**(Nicolas-Chanoine MH. 2008) (Romero L, López L.2005).**Alors qu'au sein des entérobactéries productrices de BLSE, 40%des souches de *K. pneumoniae* et 20 % des souches d'*E. coli* étaient productrices de BLSE en 1997, les données de la Collégiale de bactériologie de l'Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) mettent en évidence une augmentation du nombre d'isolats d'*E. coli*

BLSE. Actuellement, 50 % des souches d'entérobactéries productrices de BLSE sont des *E. coli* et seulement 20 % des *K. pneumoniae* **(Nicolas-Chanoine MH. 2008)** .

K. pneumoniae est l'espèce la plus commune chez laquelle les BLSE ont été décrites aux États-Unis avec une prévalence inférieure à 10% (**(Hoban DJ, Bouchillon SK .2007)**. Des variations importantes de la prévalence des BLSE ont été observées d'un état à l'autre.

Une incidence élevée a été observée dans le New Jersey (21,4 %), Massachusetts (20,6 %) et l'État de New York (19,3 %) **(Hoban DJ, Bouchillon SK .2007)** .La prévalence de *K. pneumoniae* BLSE au Canada est en augmentation. En effet, d'après les résultats du programme de surveillance CANWARD, ce taux est passé de 1,6 à 3,2 % entre 2007 et 2008 **(Baudr. P.J, Mccracken.M, 2008) .**

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 **(Philippon.A, Ben Redjeb.S, 1989).**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 % **(Abdel-Hady .H, Hawas. S , 2008)** .

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 **(Elhani.D, Bakir.L, 2008) (Elhani.D, Passet.V, 1999-2005**) .La prévalence des souches de *K. pneumoniae* BLSE est de 19,9 % en Algérie **(Messai.Y, Iabadene.H, 2008).**

En Amérique du Sud, la prévalence de BLSE produites par *K. pneumoniae* atteint jusqu'à 43,7 % (**Hawser SP, Bouchillon SK 2005-2007) (Villegas MV, Blanco.M.G, 2008) (Wollheim.C, Guerra.I.M, 2011).** En Asie, il existe des variations de la prévalence en fonction des régions : elle est supérieure à 25 % en Inde (69,4 %), en Thaïlande (45,5 %), aux Philippines (40 %), à Singapour (37,5 %), en Corée du Sud (32,4 %) et en Chine (27,5 %) mais elle est inférieure à 10%au Japon**(Hawser.S.P et Bouchillon.S.K, 2007) (Hirakata.Y et Matsuda.J, 2002)** .Des études récentes en Asie occidentale ont montré des prévalences élevées des souches de *K. pneumoniae* BLSE notamment en Arabie Saoudite (55 %), en Iran (77,7 %), au Pakistan (70 %), en Jordanie (71,4 %), aux Émirats arabes unis (36 %), au Koweït (23,5 %) et au Liban (20 %) **(Jean.S.S et Hsueh.P.R, 2011) (Samaha-Kfoury.J.k et Kanj.S.S, 2004).** En Australie et en Nouvelle-Zélande, ce taux est inférieur à 10 % **(Hawser.S.P et Bouchillon.S.K , 2007) (Pearson.J et Turnidge .J, 2007)**

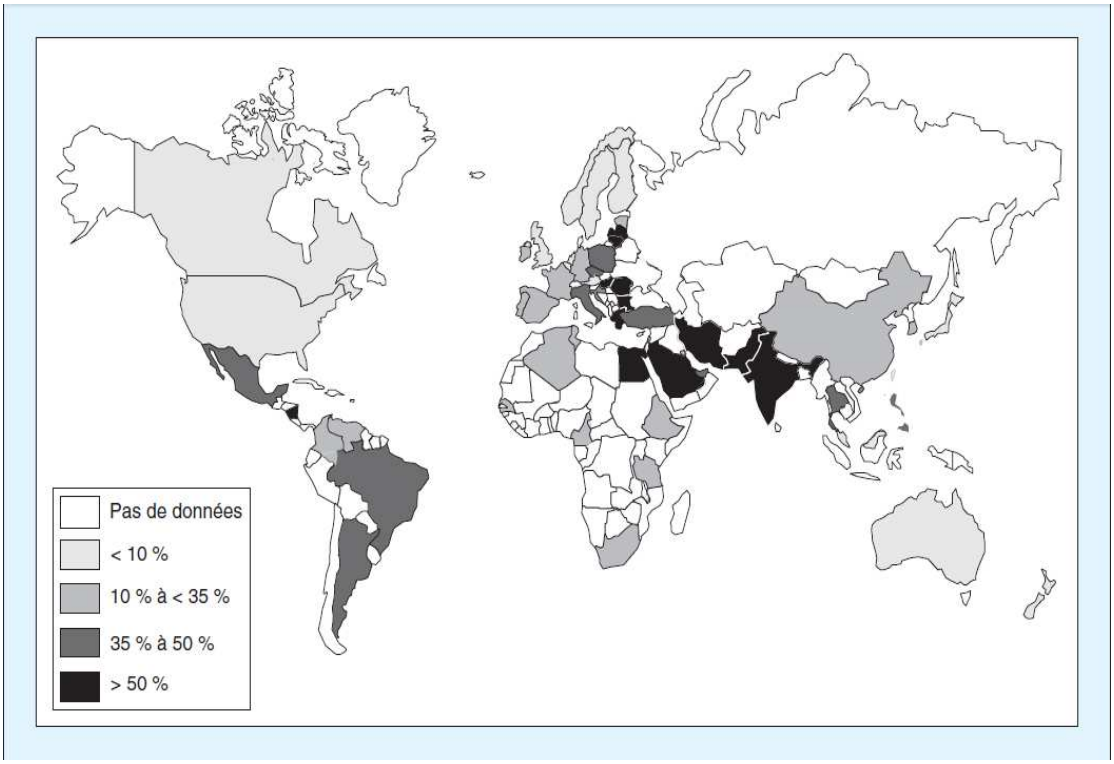


Figure 03 : Prévalence de *Klebsiella pneumoniae* productrice de _-lactamase à spectre élargi (BLSE) par pays **(Coque.T.M et Baquero.F, 2008) (Nicolas-Chanoine.M.H, 2008)**

Partie II : Matériels et méthodes

I. Méthodologie

I.1. Objectif du travail

- Notre premier but était d'évaluer le taux d'incidence des infections urinaires nosocomiales.
- évaluer les caractéristiques générales des patients hospitalisés.
- Identifier les facteurs de risque susceptible d'augmenter le risque d'avoir une infection urinaire chez les malades hospitalisés.
- Identifier les germes en cause, et ceux résistant aux antibiotiques.

I.2. Lieu d'étude

- Notre étude à été réalisée au niveau de l'établissement public hospitalier (EPH) de Médéa. L'ex. Secteur sanitaire de Médéa, précisément dans les différents services et le laboratoire d'analyses biologiques. La période d'étude a été réalisée durant 40 jours du 06 juillet au 15 aout 2017.

I.3. Type d'étude :

- Etude épidémiologique de surveillance des infections urinaires chez les nouveaux malades hospitalisés.

I.4. Population étudiée :

Tous les nouveaux malades ont été admis aux services de médecine interne et de la chirurgie générale (femme, homme).

I.4.1.Critères d'inclusions :

- Tout le patient admis dans les différentes unités des services sus cite en correspondance avec la période de l'étude.
- De tous les nouveaux malades dans le cadre d'urgence ou dans le cadre de programme (chirurgie..).

I.4.2.Les critères d'exclusion :

- Les malades qui présentent une infection a l'entrée.
- Les malades qui quittent l'hôpital avant 48 h d'hospitalisation.
- Les malades évacués à d'autres hôpitaux**.**
- Les patients qui refusent de participer à l'étude.

I.4.3.Les services hospitaliers comme suit:

- ✓ Médecine interne.
- ✓ Chirurgie générale.

I.5. Matériel

I.5.1.Instruments et appareillages :

Concernant les instruments et les appareillages qu'on a utilise durant cette étude sont les suivants :

Microscope optique, Boite Pétri, Gants, Anse de platine, Écouvillons, Pipette pasteur, Pince, Bec Bunsen, Portoir, Etuve, Lames et lamelles, Agitateur vibrant.

I.5.2. Réactifs utilisés :

- ✓ Galerie Api 20 E
- ✓ Huile de vaseline
- ✓ Lugol
- ✓ Violet de Gentiane
- ✓ Alcool
- ✓ Fuchsine basique.

I.5.3. Milieux de culture

- ✓ Gélose nutritive ordinaire.
- ✓ Milieu Hektoen.
- ✓ Milieu Muller-Hinton.
- ✓ Gélose au sang.

I.5.4. Les antibiotiques

Dans notre étude Les antibiotiques utilisés pour la réalisation d'antibiogramme au laboratoire de bactériologie à l'établissement publique de l'hôpital "Mohamed Boudiaf" MEDEA sont :

- ✓ **B lactamines** (Imipenème, Céfotaxime (CTX), Cefoxitine (FOX), Ampicilline (AM), Amoxicilline + acide clavulanique (AMC))
- ✓ **Aminosides (**Gentamycine (GM))
- ✓ **Quinolones (**Ciprofloxacine (CIP))
- ✓ **Divers (**Colistine (CS), Furanes (FT))

II. METHODES

II .1.Recueil des données :

Nous nous sommes basés sur l'étude des fiches signalétiques qui comportent les informations suivantes .

- ✓ Le sexe et l'âge
- ✓ L'hospitalisation
- ✓ Les personnes diabétiques
- ✓ Antécédent de pathologie rénal et /ou des voix urinaires.
- ✓ Antécédent des infections urinaires
- ✓ L'infection des voies génitales
- ✓ Antécédents de chirurgie urogénitale.
- ✓ La grossesse en cours.
- ✓ Pathologies cardiaques.
- ✓ Pathologies de prostate.
- ✓ Antécédents de pathologies tumorales (malades sous traitement chimio ou radiothérapie).
- ✓ L'obésité.
- ✓ Les personnes immunodéprimées.
- ✓ Sondage.
- ✓ Le nombre d'évacuation du collecteur d'urine.
- ✓ Malades alité.
- ✓ L'autonomie des besoins.
- ✓ L'utilisation des antibiotiques.
- ✓ Utilisation des couches.

II.2. Prélèvements :

Dans notre étude nous avons effectué 2 prélèvements d'urine (le premier a été fait le jour d'admission à l'hôpital et le deuxième a été fait le quatrième jour).

- Cas général habituel :

✓ Effectuer ce prélèvement le matin au réveil, des urines ayant séjournés au moins 4 heures dans la vessie de sorte que s'il y a infection les bactéries soient concentrées et en nombre suffisant pour pouvoir être détectées.

✓ Effectuer un lavage hygiénique des mains et une toilette soigneuse au savon ou bien par une compresse imprégnée de solution antiseptique de la région vulvaire chez la femme et du méat urinaire chez l'homme suivi d'un rinçage.

✓ Eliminer le 1er jet d'urines (20ml) parce que Le premier jet est essentiellement contaminé par des souillures provenant de l'urètre et pourrait fausser les résultats. Il est donc plus prudent de ne pas le recueillir.

✓ Recueillir 20 à 30 ml d'urine dans un pot stérile.

✓ Fermer soigneusement le flacon.

✓ Identifier le flacon avec votre nom et prénom si cela n'a pas été fait par le laboratoire, et noter la date et l'heure du recueil.

- Patients sondés à demeure :

✓ Ne pas prélevé, en aucun cas, à partir du sac collecteur d'urines.

✓ Clamper la sonde en aval pendant 5min.

✓ Désinfecter en amont du clamp avec un antiseptique.

✓ Prélever à l'aide d'une seringue dans la paroi de la sonde.

II.3. Acheminement

Afin d'éviter toute prolifération bactérienne, le transport au laboratoire se fera le plus vite possible (pas plus de 2 heures). Au-delà de ce délai, le flacon d'urine sera placé dans récipient contenant de la glace, les urines pourront être gardées 24 heures à 4°C, sachant toutefois que la réfrigération ne préserve pas les leucocytes comme d'écrit (Dennis *et al.* 2007).

II.4. Renseignement accompagnant le prélèvement

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement sont indispensables ; ainsi ils permettront au personnel du laboratoire d'améliorer l'examen cytobactériologique des urines (ECBU) et son interprétation. Ils concernent l'âge et le sexe du patient, le mode et l'heure du prélèvement, les motifs de la demande, les antécédents d'IU, la notion de maladie simultanée comme d'écrit (Dennis *et al.* 2007).

II.5. Examen des urines :

Définition de l'examen cytobactériologique des urines(ECBU)

L’examen cytobactériologique des urines (ECBU) constitue l’élément de certitude de l’IU. Il a pour but de révéler la présence de germes responsables de cette infection. Pour obtenir de bons résultats, il est important de respecter les conditions de recueil, de conservation et de transport (Ait Miloud ; 2011).

II.5.1.Examen macroscopique

Cet examen permet de noter s’il y a présence de modifications des caractères physiques de l’urine : couleur, odeur, aspect.

II.5.1.Examen microscopique

Cette analyse s’effectue en deux étapes: un examen cytologique et un examen bactériologique. (Annexe 1)

II.5.1.1 Examen cytologique

L’examen cytologique est qualitatif et quantitatif, car il permet d’observer d’apprécier et dénombrer les cellules présentes dans l’échantillon ; hématies, polynucléaire, cristaux, levure. Cet examen est réalisé en déposant deux gouttes d’urine étendue entre une lame malasses et lamelle sans coloration, puis examiner sous microscope à l’objectif 40.

II.5.1.2. Examen bactériologique

Cet examen est très précieux, car il permet de dénombrer les bactéries et d’isoler celles en cause.

La mise en culture doit répondre à un double objectif : isolement et numération des espèces bactériennes. C’est la seule méthode qui permet une identification exacte des microorganismes qui colonisent l’urine. Une très grande majorité de bactéries responsables d’infection urinaire ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur gélose ordinaire, gélose nutritive (GN). Dans un premier temps, l’ensemencement est réalisé en prélevant une goutte de l’échantillon qui est déposé sur la surface de la GN à ensemencer.

- **Coloration de Gram**

C’est la coloration de base en bactériologie et permet de rechercher l’affinité tinctoriale des bactéries leurs morphologies et leurs modes de regroupement. Elle permet une classification des bactéries selon leur structure.

- **Résultats:**

Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes.

Les bactéries à Gram négatif sont roses.

II.6. Isolement

Nous avons utilisé 03 milieux de culture sélectifs pour l'isolement des souches, il s'agit de la gélose Hektoen, la gélose nutritive et gélose au sang.

A partir d'un prélèvement d'urine, on ensemence par 04 stries les boites de Pétri contenant la gélose nutritive et la gélose Hektoen et on incube les boites à 37°C pendant 24h.

II.7. Purification et identification

Après incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussé sur les deux milieux de culture.

Si on trouve une *Klebsiella* sur le milieu Hektoen les différentes colonies obtenues sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir des souches pures.

II.8. Critères d'identifications de *Klebsiella pneumoniae :*

II.8.1.Identification par les testes biochimique :

- **Catalase :**

Sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l' H_2O_2 (à 10 volumes) .la lecture est immédiate.

- **Oxydase** : (annexe 2)

Sur une lame et à l'aide d'un pince, on dépose un disque d'identification d'oxydase puis avec une pipette Pasteur on dépose colonie bactérienne sur ce disque. La lecture est immédiate.

II.8.2. Galerie API 20E

L'identification a été faite par la galerie rapide API système .API 20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatifs non fastidieux, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données. Ces galeries API 20E sont fournies par l'IPP, il s'agit de galerie qui se présente sous forme de produits desséchés que l'on réhydrate par inoculation de la suspension du germe à tester.

On procède comme suit:

- On réunit fond et couvercle d'un boite d'incubation et on réparti environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boite d'incubation;
- On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne;
- On remplie les tubes et cupules des tests CIT, VP er GEL avec la suspension bactérienne et on remplie uniquement les tubes des autres tests;
- On réalise une anaérobiose dans les tests : LDC, ADH, ODC et URE, en remplissant leur cupule d'huile de vaseline;
- On referme la boite d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 18 à 24 heures;
- L'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue d'identification.



Figure 04 : Galerie API20 E.

II.9. Antibiogramme :

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle: résistant, sensible, intermédiaire, ou (indéterminée) **(Scavizzi et al ; 2000).**

Pour chaque souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée, un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton. La technique de l'écouvillonnage et la mesure des diamètres se font selon les recommandations du CLSI.

Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans le choix de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

a- Milieu pour l'antibiogramme

On utilise un milieu non sélectif Mueller-Hinton, il doit être coulé en boites de Pétri sur une épaisseur de 4mm, les boites doivent être séchées avant leur emploi.

b- Réalisation de l'inoculum bactérienne

A partir d'une culture pure de 18 h à 24 h sur milieu d'isolement approprié, prélever à l'aide d'un écouvillon stérile une ou plusieurs (4 à 5 colonies identiques) bien isolée, et les transférer dans un tube contenant 2.5 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne a l'aide d'un agitateur.

c- Ensemencement par écouvillonnage

- L'écouvillon est trempé dans l'inoculum ;

- l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum ;

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, l'opération est répéter 2 fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;

- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

- Recharger l'écouvillon pour chaque boîte de Pétri.

d- Application des disques d'antibiotiques

L'application des disques se fait à l'aide de distributeurs automatiques. Certains disques sont déposés manuellement avec une pince flambée (utiles pour un rapprochement ou éloignement des disques, ou pour un choix positionnel) qui sont parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boite et deux disques doivent être éloignés au minimum de 30mm de sorte que les zones d'inhibitions ne se chevauchent pas. Les boites sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

e- Lecture et interprétation

Les résultats sont exprimés en mm après lecture des diamètres des zones d'inhibition et sont interprétés en trois catégories: S= sensible, R= résistant, et I= intermédiaire, en se référant aux normes CLSI (Clinical and Laborotory Standards Institute).

Partie III : Résultats et discussion

Partie III : Résultats et Discussion :

I. Prélèvements

Durant la période d'étude allant du 06 juillet au 15 aout 2017, une seule souche de *Klebsiella pneumoniae* a été colligée : 77 hospitalières.

I.1.Distribution globale des patients selon le service :

La fréquence selon le service est représentée dans la figure. On note une prédominance des patients au niveau de service MIF avec un pourcentage de 26 %, suivi par les deux services de MIH et CHH avec 25%, et 24% pour le service de CHF.

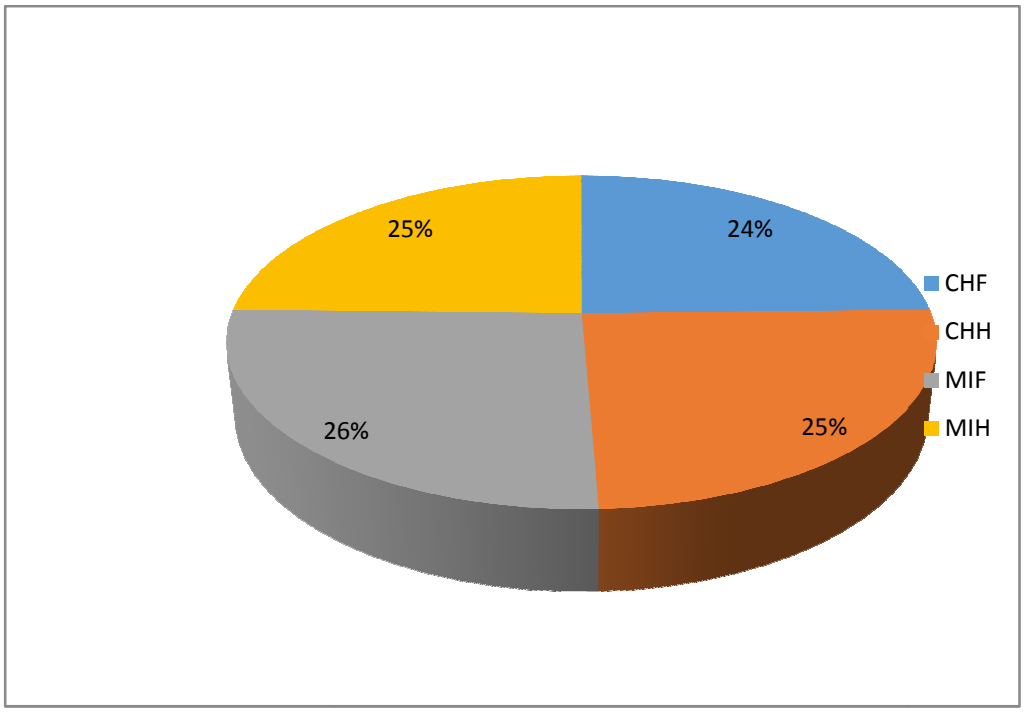


Figure 05 : Répartition des patients selon le service

I.2.Distribution globale des patients selon le sexe :

Parmi les souches isolées , le sexe féminin présentait un pourcentage de 49% et le sexe masculin présentait un pourcentage de 51%. On remarque alors une simple prédominance des hommes par rapport aux femmes.

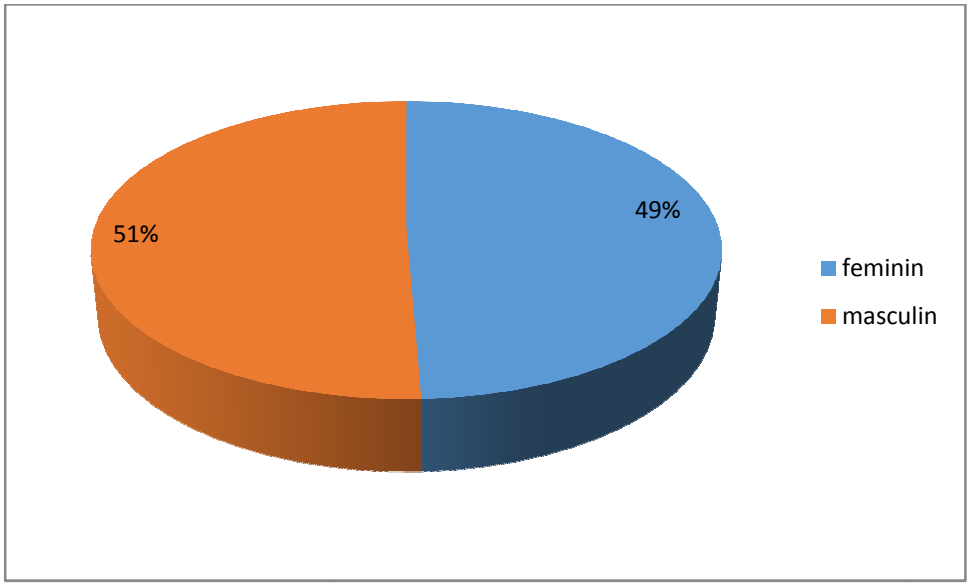


Figure 06 : Répartition globale des patients selon le sexe.

I.3.Distribution globale des patients selon le type d'admission :

On note qu'il y a 3 types d'admission qui sont comme suit : 90% des patients qui sont évacués de l'urgence, 8% qui sont programmés et les patients qui sont transférés ne représentent que 2 %.

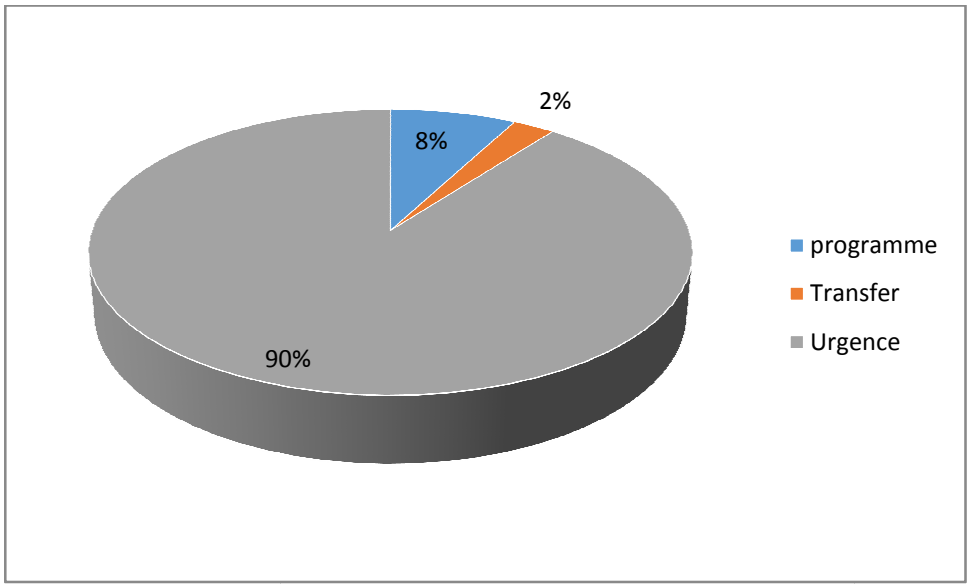


Figure 07 : Distribution globale des patients selon le type d'admission.

I.4.Distribution globale des patients selon tranche d'âge :

On note que la tranche d'âge la plus présentes au niveau des services cibles est de (36-45 ans) avec un pourcentage de 19 % suivi par la tranche d'âge entre (26-35 ans) avec 17%,16% suivi par la tranche d'âge entre (76-85 ans) ,14% entre (66-75

ans) ,12% suivi par la tranche d'âge entre (16-25 ans),10 % entre (46-55 ans),9% suivi par la tranche d'âge entre (56-65 ans) et un faible pourcentage de 3% pour la tranche d'âge de (86-95 ans).

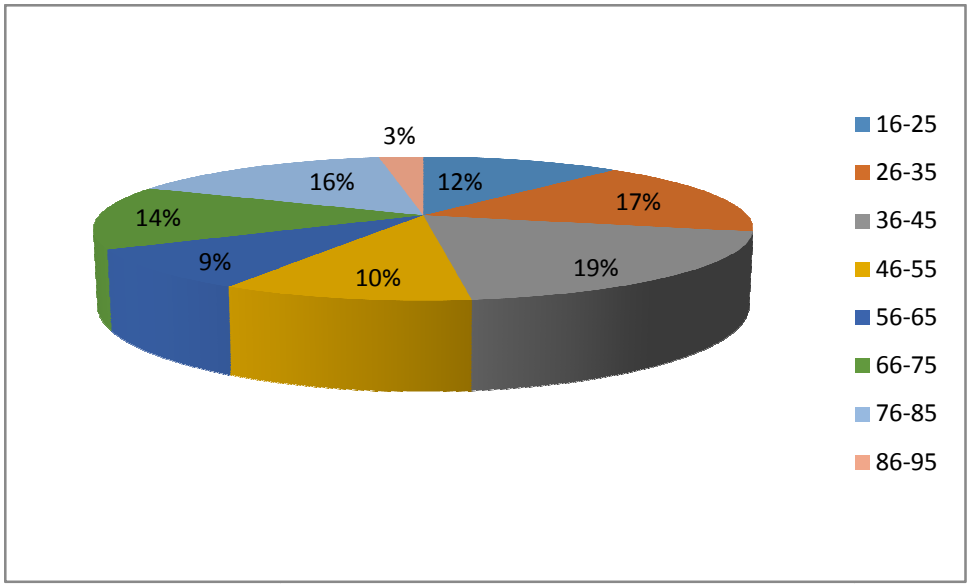


Figure 08 : Distribution globale des patients selon tranche d'âge.

I.5.Distribution globale des patients selon la pathologie du diabète :

On note une prédominance des patients non diabétiques avec un pourcentage de 84% et 16% de patients diabétiques.

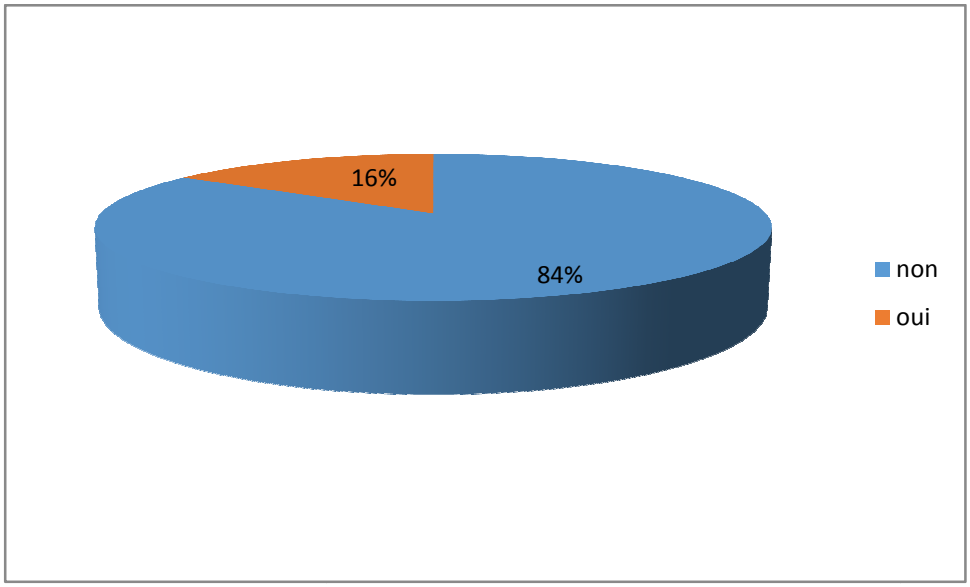


Figure 09 : Répartition globale des patients selon la pathologie du diabète.

I.6.Distribution globale des patients selon la pathologie cardiaque :

Les résultats illustrés ci-dessous montrent une prédominance des patients non cardiopathe avec un pourcentage de 57% et 43 % des patients cardiopathe.

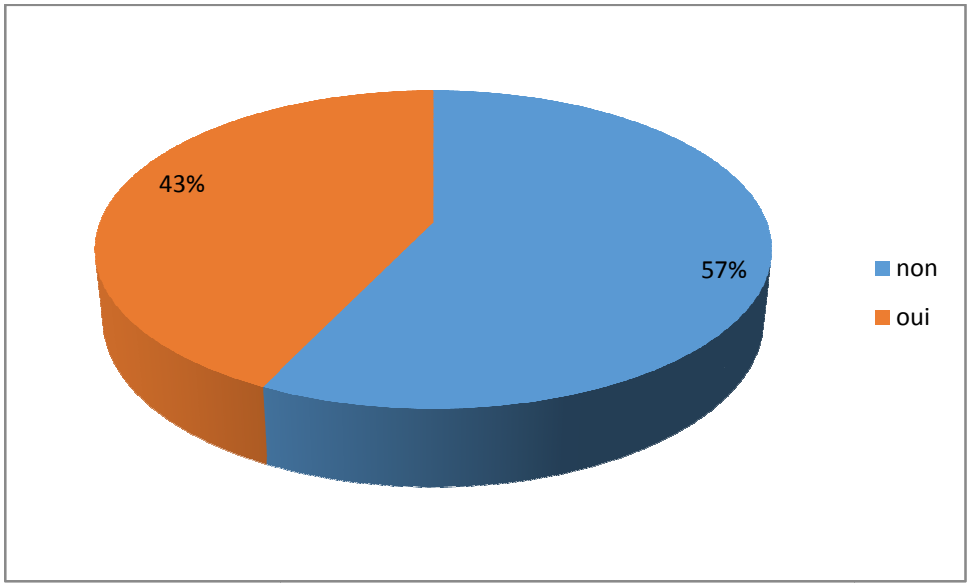


Figure 10 : Répartition globale des patients selon la pathologie cardiaque.

I.7.Distribution globale des patients selon la pathologie rénale et /ou des voix urinaires :

Les résultats illustrés ci-dessous montrent une prédominance des patients qui ne présentent pas une pathologie rénale et/ou des voix urinaires avec un pourcentage de 91% et 9 % des patients présentant une pathologie rénale.

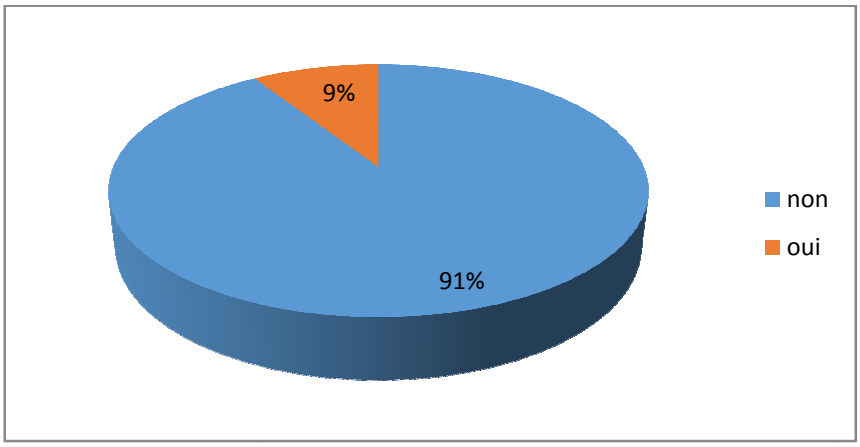


Figure 11 : Répartition globale des patients selon la pathologie rénal et /ou des voix urinaires.

I.8.Distribution globale des patients selon la pathologie de prostate :

Les résultats illustrés ci-dessous montrent une prédominance des patients qui ne présentent pas une pathologie de prostate avec un pourcentage de 96% et4 % des patients présentant une pathologie de prostate .

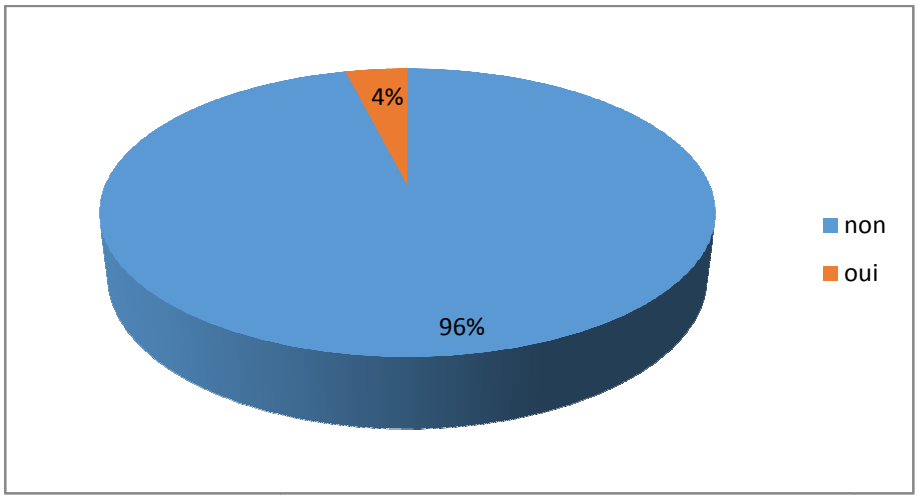


Figure 12 : Répartition globale des patients selon la pathologie de prostate.

I.9.Distribution selon le motif d'hospitalisation :

Le graphique ci-dessous représente le pourcentage des patients selon le motif d'hospitalisation.

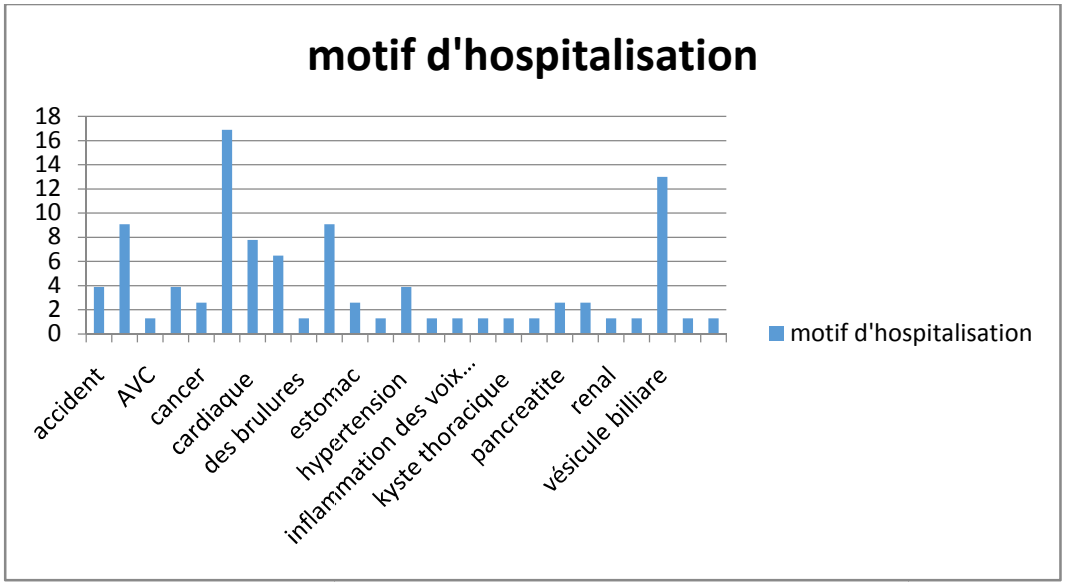


Figure 13:répartition globale selon le motif d'hospitalisation.

II. Analyse des prélèvements au laboratoire :

II.1. Examen macroscopique

L’aspect des colonies sur le milieu solide permet de déterminer la forme, le relief, la taille, la consistance et la couleur (fermentation) sur boîte de Pétri.



Figure 14: Aspect des colonies des *Klebsiella pneumoniae* sur milieu Hektoen.

L'aspect des colonies sur milieu Hektoen est en relation de la capacité des microorganismes à fermenter le lactose mis dans le milieu. Cela conduit à une production d'acide qui abaisse le pH et modifie l'indicateur de pH placé dans le milieu qui vire du vert au jaune-oronge, Notre souche se présente sous formes de grosses colonies muqueuses, bombées, lactose (+), ayant un aspect d’une goutte de miel, avec une tendance a la confluence. Ces résultats sont compatibles avec ceux mentionnées par **(Illiaquer 2010).**

II.2. Examen microscopique

II.2.1. Etat frais

L’observation microscopique montre des bacilles immobiles courts. Ce résultat est compatible avec celui de Seck (2005).

II.2.2.Coloration de Gram

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, montre que les souches se présentent sous forme de bacilles ou diplobacilles colorées en rose. Donc ce sont des bacilles à Gram négatif, Ceci est compatible avec les résultats de Gueye (2007).

II.3.Identification des souches

II.3.1Galeries classique :

Il est possible de connaitre certaines caractéristiques du métabolisme de la bactérie analysée grâce aux galeries biochimiques classiques. Les figures montrent les résultats de la galerie biochimique de *K. pneumoniae*.



A



B

Figure 15 : Résultats de galerie biochimique de *K. pneumoniae* ***A (oxydase)B (catalase).***

II.3.2.Galeries API 20 E :

L'identification par galerie API 20E permet de mettre en évidence touts les caractères biochimiques.



Figure 16 : Résultats de l'identification d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* par galerie API 20E.

III.4. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Les résultats issus de cette étude ont montré que cette souche a présenté un fort taux de sensibilité aux β-lactamines: CTX/CR-IMP- ,aminosides :GM- et aux Colistine CS. Une resistance aux β-lactamines :AM,AMC,CZ/CN, aux quinolones :CIP et aux Furanes (FT)



Figure 17 : Résultats d'antibiogramme d'une souche *Klebsiella pneumoniae.*

I.10.Distribution globale selon l'agent causal :

Les résultats illustrés ci-dessous montrent un faible pourcentage des patients qui sont affectés par *E.coli* et/ou *Klebsiella pneumoniae* avec un pourcentage de 1% des patients atteints de *E.coli* et 1 % des patients atteints de *Klebsiella pneumoniae* et un pourcentage de 98% des patients non infectés .

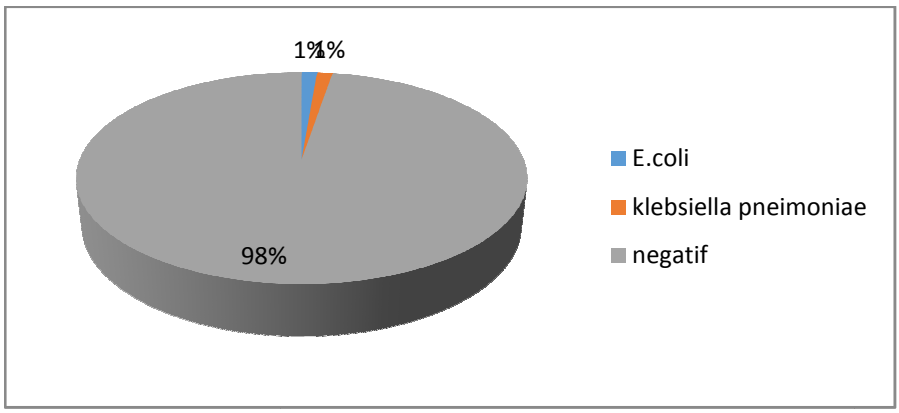


Figure 18: Répartition globale selon l'agent causal.

IV. Discussion :

Notre étude montre que la fréquence d'échantillonnage est presque identique pour chaque service avec un pourcentage de 26 % au niveau du service MIF, 25% au niveau des services de MIH et CHH et 24% pour le service de CHF , ces résultats sont très rapprochés parce que ces services sont les plus touchés et chargés dans l'hôpital de Médéa et les motifs d'hospitalisations qu' on a trouvé nécessite ces services (la vésicule biliaire concerne le service de la chirurgie et les cardiopathies concerne le service de la médecine interne, ca n'empêche pas qu'il y a d'autres motifs .

Parmi les échantillons prélevés on remarque une légère prédominance chez les hommes 51% par rapport a celle des femmes 49% donc le nombre d'admission des hommes est très proche de celui des femmes car ils sont les deux prédisposés à avoir la pathologie cardiaque et la vésicule biliaire. Ces résultats correspondent à ceux de l'étude SEKHRI 2011.

Il y'a 3 types d'admission 90% des patients qui sont évacués de l'urgence, 8% qui sont programme et les patients qui sont transférés ne représentent que 2%.

On remarque que la plupart des cas nécessitent au début le passage par les urgences et peuvent rester 2 à 3 jours jusqu'à l'obtention du diagnostic final pour transférer aux autres services.

On remarque une légère prédominance de la tranche d'âge qui se situe entre 36 à 45 ans avec un pourcentage de 19% mais ce pourcentage reste toujours proche des autres intervalles d'âge sauf pour la tranche d'âge qui se trouve entre 86 à 95 ans qui ne représente que 3%.

On note une prédominance des patients non diabétiques avec un pourcentage de 84% et 16% de patients diabétiques car le diabète n'est pas un facteur prédispose d'avoir une pathologie cardiaque ou la vésicule biliaire. Vu que le traitement du diabète ne nécessite pas une hospitalisation et vue que le malade suit son traitement régulièrement.

Parmi les 25 motifs d'hospitalisation la pathologie cardiaque seule couvre 43% et par conséquence elle est la plus impliquée dans l'hospitalisation des patients. Elle est une pathologie chronique et réputée dans la région de Médea.

Par ailleurs Les pathologies rénales et de prostate ne couvrent que 9 % et 4% successivement donc elles ne sont pas vraiment impliquées dans l'hospitalisation des personnes. Vu que le motif d'hospitalisation est souvent cardiaque en plus les malades testes ont présente une culture négatif ce qui explique ce taux bas des infections urinaires.

Les personnes qui souffrent de vésicule biliaire représentent le motif d'hospitalisation le plus présent dans les services de chirurgie ainsi que les personnes atteint de pathologie cardiaque dans les services de médecine interne mais ça n'empêche pas qu'il ya d'autres motifs comme le diabète et le colon qui sont fréquent.

Les infections urinaires causées par *Klebsiella pneumoniae* sont très rares et on n'a trouvé qu'un seul cas et cela est du a la durée de notre stage qui était très courte.

Les résultats issus de cette étude ont montré que cette souche a présenté un fort taux de sensibilité aux β-lactamines: CTX/CR-IMP-, aminosides :GM- et aux Colistine CS.Une resistance aux β-lactamines :AM,AMC,CZ/CN, aux quinolones :CIP et aux Furanes (FT).

a-β-lactamines

A partir des résultats obtenus, la souche étudiée est résistante à l'ampicilline, amox-acide clavulanique et céfazoline/cefalixine .ces résultats obtenus sont donc en parfait accord avec SEKHRI (2011) qui rapportent une résistance de 100% pour l'ampicilline, amox-acide clavulanique et céfazoline/cefalixine.

b-Aminosides

Pour les aminosides la souche de *Klebsiella pneumoniae* présente une sensibilité pour la Gentamicine. Ces résultats sont différents de ceux de Sekhri A (2011), qui rapportent une résistance pour gentamycine.

c- Quinolones

En ce qui concerne les quinolones, la souche de *Klebsiella pneumoniae* présente une résistance à ciprofloxacine. Ces résultats sont différents de ceux de Sekhri A (2011), qui rapportent une sensibilité à 100% pour la ciprofloxacine.

d- Autres :

La souche de *Klebsiella pneumoniae* présente une sensibilité pour la colistine et une résistance pour la Furanes.

Conclusion

Conclusion :

Ce travail a été effectuer au niveau des services de l'hôpital de Médéa sur des échantillons prélevés à partir de différentes catégories de malades qui ont été hospitalisés pendant la période allant du 06 juillet au 15 out 2017.

Durant cette période nous avons pu prélever 77 échantillons d'urine sur les quelles on a effectué notre travail qui consistait à l'identification des souches de *klebsiella pneumoniae*.

Enfin, L'enquête que nous avons effectué montre que le taux des infections urinaires nosocomiales causées par *klebsiella pneumoniae* est très faible et les statistiques ne sont pas alarmantes. Malgré cela, les infections nosocomiales ne peuvent pas être totalement irradiées des établissements car les facteurs entraînant ces pathologies sont multiples, dans ce cas cette étude ne permet pas de donner une décision finale sur l'état des infections nosocomiales et nous espérons élargir notre travail pour toucher plus de services et avoir un temps plus large pour pouvoir tirer des résultats plus exacts et plus fiables. En contre partie, les préventions ne garantissent pas le risque zéro, c'est pourquoi nous pouvons dire que ces infections liées aux soins qui sont faciles à soigner pour la plupart des cas restent, cependant, quasiment inévitables.

Références bibliographiques

La liste de référence :

A :

Aartsen J J., Stahlhut S G., Harrison EM., Crosatti M., Ou H-Y., Krogfelt K A., Struve C and Rajakumar K. 2012. Characterization of a novel chaperone/usher fimbrial operon present on KpGI-5, a methionine tRNA gene-associated genomic island in Klebsiella pneumoniae.van Aartsen et al. BMC Microbiology 2012, 12:59.

Abdel-Hady H, Hawas S, El-Daker M, El-Kady R. Extended-spectrum betalactamase
producing *Klebsiella pneumoniae* in neonatal intensive care unit. *J Perinatol* 2008 ; 28 : 685 90.

Ait Miloud K. (2011) Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, L'infection urinaire: Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de Rabat, Maroc.

Al-Zarouni M, Senok A, Rashid F, Al-Jesmi SM, Panigrahi.F D. SM. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum beta-lactamaseproducing
Enterobacteriaceae in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract* 2008 ; 17 : 32-6.

Arafa N,Smati F, Scheftel M.J, Meunier O.2009. Caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* isolées a l'hôpital universitaire, Algérie. Science et Technologie30, P44, 45, 46.

Archambaud M., Clave D. 2008. Fiche technique : Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse. Fiche technique-Bactériologie 83 EN.FTBAC.14610611.01**.**

Avril J-L., Dabernat H., Denis F. et al. (2000). Bactériologie Clinique. Ellipses. 3ème Edition. 511p.

B :

Baerwolf S, Geffers C, Behnke M. 2002. Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital. SHEA 216.

BASCOMB S., LAPAGE S.P., WILLCOX W.R. and CURTIS M.A., Batchoun RG, Swedan SF, Shurman AM. Extended spectrum beta-lactamases among Gramnegative
bacterial isolates from clinical specimens in three major hospitals in Northern Jordan. *Int J Microbiol* 2009 ; 2009 : 513874.

Baudry PJ, Mccracken M, Lagace-Weins P, Mulvey MR, Zhanel GG, Hoban DJ *et al*. Extended spectrum _-lactamases producing *Enterobacteriacae* (ESBL-ENT) from patients in Canadian hospitals. CANWARD 2007 & 2008. In: 49th Interscience Conference on antimicrobial agents and chemotherapy. San Francisco : 12-15 September 2009 ; C2-672.

BEN CHABAANE T., (2002-2003). Maladies infectieuses, centre de publications universitaires TUNIS,165P**.**

Ben Haj Khalifa.A et Khedher. M. (2010). Epidémiologie des souches de Klebsiella spp.uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hopital universitaire Tunisien. pathologie Biologie 60 e1-e5.

Ben Jaballah N, Bouziri A, Mnif K, Hamdi A, Khaldi A, Kchaou W. Epidemiology of hospital-acquired bloodstream infections in a Tunisian pediatric intensive care unit: a 2-year prospective study. *Am J Infect Control* 2007 ; 35 : 613-8.

Bermudes H. Jude F. Arpin C. Quentin C. Morand A. Labia R. Characterization

of an inhibitor-resistant tem (irt) beta-lactamase in a novel strain of klebsiella pneumoniae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., page 222, 1997 Jan**.**
Bergogne-Berézin E, Dellamonica P. 1995. Antibiothérapie en pratique clinique. Masson, Paris. P 486.
BORREL T., 2000. Les infections nosocomiales, L'Homme et son environnement.
Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. (2002). Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale.
C :
CARBONNELLE 6.,DENIS F., MARMONIER A., PINON G., VARGUES R., Bactériologie médicale techniques usuelles SIMEP 1987.
Carl S. 2009. La Résistance aux antibiotique : un enjeu de santé publique imporant.le parrainage des antimicrobiènnes .p47
Carrer A, Nordman P.2009. *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des beta-lactamases à spectre étendu. Pathologie Biologie59, P 133-135**.**
Cavallo J-D., R. Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrab E. 2004. Bêtalactamines. EMC-Maladies Infectieuses 1 (2004) 129-202
Chaves J. Coira A. Segura C. Reig R. Identification and location of the shv-1 gene in klebsiella pneumoniae strains. Journal of Chemotherapy., pages 49-51, 1995 Nov.
Colasson F, Darracq Paries JC et al. 1981, Les risques foetaux et maternels dans l'infection urinaire gravidique. Rev Fr. Gynécol. Obstétr, 76 :269-78.
Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBLproducing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill* 2008 ; 13 : pii- 19044.
Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. 2006. Antibiogramme. 141. ED. Masson**.**
D :
Dabernat, H., O. Petitjean, and S. J. P. W. P. Schlemmer. 1997. Infectiologie de A à Z.354-355.
DAVID Ti., AND MATSEN J.M., Prevalence and characteristic of Klebsiella species : relation to association with a hospital environment J. Infect. Dis, 1974 130 420 – 440**.**
Di Martino P, Cafferini N, Joly B, Darfeuille-Michaud A. 2003. Klebsiella pneumoniae type 3 pili facilitate adherence and biofilm formation on abiotic surfaces Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.. Research in Microbiology 154: 9-16 **.**
Duca M., Furtunescu G., Microbiologie médicale, 2e Ed. Didactique et pédagogique, Bucarest, 1979, 436p .
E :
ECONOMOV -STAMATELOPOULOU C., PARAVASSILIOU J_, Activité bactéricide des désinfectants vis à vis de certaines souches bactériennes. Klebsiella Pneurnoniae. Bull. Soc. Path. Ex, 1987, 80. 751 – 755**.**
El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012.
Elhani D, Bakir L, Aouni M. Dissémination des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de _-lactamases à spectre étendu dans un centre hospitalo-universitaire tunisien. *Ann Biol Clin* 2006 ; 64 : 237-43.
Elhani D, Bakir L, Aouni M, Passet V, Arlet G, Brisse S, *et al*. Molecular epidemiology of extended-spectrum _-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in a university hospital in Tunis, Tunisia, 1999-2005.
Euzéby J.P 2004. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
Eyquem A, Alouf J, Montagnier L. 2000 Traite de microbiologie clinique :

deuxième mises a jour et compléments. Piccin, P84**.**
F :
Fauchère J.L et Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15: 252-253; 10: 151-176.
Freney J, R. F., Hansen W, and Bollet TC. 2000. Précis de bactériologie clinique.
Fung C.P, Hu B.S, Chang F.Y. 2000. A 5-year study of the seroepidemiology of Klebsiella pneumoniae: high prevalence of capsular serotype K1 in Taiwan and implication for vaccine efficacy. J Infect Dis 181: 2075-9**.**
G :
G1BERT C., WITCHITZ J., VACHON F., RICHARD C., VIEU J.F., et VERNANT D. Que peut attendre d'une étude épidémiologique bactérienne en réanimation ? "Journées de réanimations de l'hôpital Claude Bernard - Librairie Arnette, Paris 1975.
Gniadkowski M. 2001. Evolution and epidemiology of extended-spectrum betalactamases
(EBLSs) and EBLS-producing microorganisms. Clin Microbiol Infect 7. P597-608.
Grall N., Andremont A., Armand-Lefèvre L. 2011. Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? ANTINF-16 ; No. of Pages 16.
Gueudet T., Richter S., Szulc M et Jehl F. 2009. Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de Klebsiella pneumoniae produisant une céphalosporinase plasmidique. MEDMAL-2927 ; No. Of Pages3**.**
Groopman, J (2008-08-11). "Superbugs". The New Yorker. Retrieved 2013-07-07. The new generation of resistant infections is almost impossible to treat
Gueye O. 2007. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. P27, 28-44.
H :
Haeggman S. Lofdahl S. Burman LG. An allelic variant of the chromosomal gene for class a beta-lactamase k2, specific for klebsiella pneumoniae, is the ancestor of shv-1. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, pages 2705-2709, 1997 Dec.
Haertig, P. Conort 1991, Internat nouveau programme. 8, Urologie, Heure de France, 978-2-85385-131-2.
Hannedouche T. (2000). Infection Urinaires. Nephrohus online.
Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Badal RE, Hsueh PR, Paterson DL. Emergence of high levels of extended-spectrum-beta-lactamaseproducing gramnegative
bacilli in the Asia-Pacific region: data from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) program, 2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2009 ; 53 : 3280-4
Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Badal RE. *In vitro* susceptibilities of aerobic and facultative anaerobic Gram-negative bacilli from patients with intraabdominal
infections worldwide from 2005-2007: results from the SMART study. *Int J Antimicrob Agents* 2009 ; 34 : 585-8.
Hennequin C., Forestier C. 2007. Influence of capsule and extended-spectrum betalactamases
encoding plasmids upon Klebsiella pneumoniae adhesion. Research in Microbiology 158(2007) 339-347.)
HIGHSMITH AK_, JARVIS WR., Klebsiella pneumoniae : selected virulence factors that contribute to pathogenicity. Infect Control ; 1985 : 6 75 - 77.

Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamihira S, Kawakami S, Miyazawa Y, *et al*. Regional variation in the prevalence of extendedspectrum _-lactamase – producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005 ; 52 : 323-9.

Hoban DJ, Bouchillon SK, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of extendedspectrum
beta-lactamase producers and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* throughout the United States and comparative *in vitro* activity of tigecycline, a new glycylcycline antimicrobial. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007 ; 57 : 423-8**.**

HOLLOWAY PM., DUCKNALL RA., DENTON. The effects of sub-Lethal concentrations of chlorexidine on bacterial pathogenicity. J. Hospital Infect; 1986 , 6 39 – 46.

Hsieh P-F., Lin TL., Yang FL., Wu M-C., Pan YJ., Wu S H., Wang J T.2012. Lipopolysaccharide O1 Antigen Contributes to the Virulence in Klebsiella pneumoniae Causing Pyogenic Liver Abscess. March 2012 | Volume 7 | Issue 3 | e33155**.**

HYGIE V., 1987. Hygiène hospitalière. ED C&R, pp: 17

I :

Iliaquer M. (2010). Epidémiologie et caractérisation moléculaire de souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux céphalosporines de 3ème génération hors BLSE, isolées entre 2007 et 2009, au C.H.U de Nantes. Université de Nantes. 123p.

J :

Jarlier V, Nordmann P. 2000. Entérobactéries et bêta-lactamines. In Freney J, Renaud F, Hansen W, Botler C. Précis de bactériologie clinique. Ed Paris; ed ESKA 649-665.

Jean SS, Hsueh PR. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Int J Antimicrob Agents* 2011 ; 37 : 291-5.

Joly B et Reynaud A. 2002. Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. P : 79-80-83.

Jones CH, Tuckman M, Keeney D, Ruzin A, Bradford PA. Characterization and sequence analysis of extended-spectrum-{beta}- lactamase-encoding genes from *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates collected during tigecycline phase 3 clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother* 2009 ; 53 : 465-75.

L :

Lai Y.C, Yang S.L, Peng H.L, Chang H.Y. 2000. Identification of genes present specifically in a virulent strains of Klebsiella pneumoniae. Infect Immun 68: 7149-7151.

LE MINOR L,VERON M. Bactériologie médicale. Flammarion Paris 1962.

Le Minor L and Véron M. 1989. Bactériologie médicale, 2éme édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris.2:428-432**.**

Librairie Larousse., 1980. Petit Larousse en couleur, pp: 628.

Lemozy J. Sirot D. Chanal C. Huc C. Labia R. Dabernat H. Sirot J. First characterization of inhibitor-resistant tem (irt) beta-lactamases in klebsiella pneumoniae strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., pages 2580-2, 1995 Nov**.**

Lesher, G. Y., E. J. Froelich, M. D. Gruett, J. H. Bailey, and R. P. Brundage. 1962. 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. J. Med. Pharm. Chem. 91:1063-1065**.**

M :

Maltezou, H. C., E. Papacharalambous, K. Tryfinopoulou, L. Ftika, A. Maragos, G. Kyriakeli, P. Katerelos, C. Trakateli, M. Polemis, E. Roilides, A. Vatopoulos, and N. Nikolaidis. 2013. Outbreak of pan-susceptible *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. Scand.J.Infect.Dis. **45**:872-877.

Makhtar Camara, Halimatou Diop Ndiaye, Awa Ba Diallo et al.. 2011, Epidémiologie des souches de Klebsiella pneumoniae productrices de β-lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire au Sénégal, Rev. CAMES SANTE - ISSN 2424-7243

Mehrgan H, Rahbar M, Arab-Halvaii Z. High prevalence of extendedspectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. *J Infect Dev Ctries* 2010 ; 4 : 132-8

Messai Y, Iabadene H, Benhassine T, Alouache S, Tazir M, Gautier V, *et al*. **P**revalence and characterization of extended-spectrum _-lactamases in Klebsiella pneumoniae in Algiers hospitals (Algeria). *Pathol Biol (Paris)* 2008 ; 56 : 319-25

MESTA A.M., AVALOS.C., OARBACHANO.J., CARMONA.M., GARZA.A., LARES.F., SALAZAR.G., VALLEJO.O.,ORTIGOZA.J., Klebsiella pneumoniae as a primary pathogenic agent 1. REVISTA LATINO AMERICANA DE MICROBIOLOGIA ; 1985 ,27 ,1 – 6

Murray P. D, Gimenez F ; (2008), Généralités sur les antibiotiques, p. 907.

Nordmann P et Carrer A. 2010. Les carbapénèmases des entérobactéries. Archives de pédiatrie 2010 ; 17 :S154-162.

N :

Nicolas-Chanoine MH, Jarlier V, La Collégiale de bactériologievirologiehygiène hospitalière de l'Assistance publique, Hôpitaux de Paris, France. Extendedspectrum beta-lactamases in long-term-care facilities. *Clin Microbiol Infect* 2008 ; 14 : 111-6

Nordmann P et Carrer A. 2010. Les carbapénèmases des entérobactéries. Archives de pédiatrie 2010 ; 17 :S154-162.

Nurnerical classification of the tribe Klebsiellae J. Gen Microbiol, 1971, 66 279 - 295.

O:

Ofek I, Messika A, Kalina M, Keisari Y, Podschun R, Sahly H, Chang D, McGregor D, Crouch E. 2001. Surfactant protein D enhances phagocytosis and killing of unencapsulated phase variants of Klebsiella pneumoniae. Infect Immun 69:24-33**.**

ORSKOV L, Nosocomial infection with Klebsiella in lesion of the urinary tract. Acta path, microbiol, Scand, 1952 936 259 - 271.,

ORSKOV I.,Biochemical types in the Klebsiella group in the Klebsiella group. Acta path rnicrobiol Scand 1957, 4 155 – 162

P :

PAISREYMAN JUDITH.M., Klebsiella Serotyping by counter-current immunoelectrophoresis. J. HVG. GAM. 1978, 81 ,219 - 225.

Philippon A, Ben Redjeb S, Fournier G, Ben Hassen A. Epidemiology of extended spectrum _-lactamases. *Infection* 1989 ; 17 : 345-54.

Podschun, R. and U. Ullmann. 1998. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin.Microbiol.Rev.11:589-603.

R :

REID 612E6OR., RAPHAEL, C.V. CHAN., ANDREW W., BRUCE., J.WILLIAM COSTERTON., Prevention of Urinary Tract Infection in Rats with and

Indigenous Lactobacilus Casei Strain. Infect and lm., AUG 1985, 320 – 324.
RENNE R9., C.E.NORD., LSJOBER6., I.B.R.DUNCAN., Comparison of bacteriophage Typing, Serotyping, and Biotyping as AIDS in Epidemiological Surveillance of klebsiella Infections. J. of Clinic Microbiol 1978 . 638 – 642.
Richard C., Etude antigénique et biochimique de 500 souches de Klebsiella Ann Biol clin 1973, 31 295 - 303**.**
RICHARD C., Bactériologie et Epidémiologie des espèces du genre Klebsiella. Ann. de l'Institut Pasteur 1982 80 127 – 145.
Richard Cl. Et Grimont F. Klebsiella, Enterobacter, Hafnia, Serratia, In : LE MINOR (L). Bactériologie médicale, Paris : Flammarion, 1992, 427-31p. LECLERC H., Microbiologie générale, 2e édition, 1983, 95p.
Riegel P. 2002. Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. J Médecine et maladies infectieuses 33: 255s-265s**.**
Romero L, López L, Rodríguez-Ba˜no J, Ramón Hernández J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum _- lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2005 ; 11 : 625-31.
S :
Samaha-Kfoury JN, Kanj SS, Araj GF. *In vitro* activity of antimicrobial agents against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care center in Lebanon. *Am J Infect Control* 2005 ; 33 : 134-6.
Scavizzi M, Labia R, Petitjean O, Elbhar A. 2000. L'antibiogramme de l'analyse des populations bactériennes à la thérapeutique. J Antibiotiques **2**: 122-134.
Seck R. 2005. Resistance des souches *d'Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'infections urinaires, P12-13.
Sekhri Arafa N. 2011. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de Klebsiella pneumoniae dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine.Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences.
Sougakoff W, Trystram D. 2003. Résistance aux beta-lactamines. P41-42.
Stahlhut S G., Struve C., Krogfelt K A et Reisner A.2012. Biofilm formation of Klebsiella pneumoniae on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. FEMS Immunol Med Microbiol 65 (2012) 350–359**.**
SUZUKI K., KISHIMOTO T., SHIRAI T., YAMAMOTO 11_, Bacteriology and histopathologg correlation in terminal pneumonia in the aged. J. of Thoracic Dis, 1964, 22 , 570 – 576.
T :
Turner PJ. MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broadspectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009 ; 63 : 217-22.
V :
Villegas M.V, Correa A, Perez F, Zuluaga T, Radice M, Gutkind G, Casellas J.M, Ayala J, Quinn JP. 2004. CTX-M-12 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate in Colombia. J Antimicrobiol Agents and and Chemotherapy 48, P 629-631.
Villegas MV, Blanco MG, Sifuentes-Osornio J, Rossi F. Increasing prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America-2008 update from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). *Braz J Infect Dis* 2011 ; 15 : 34-9**.**
W :

Wollheim C, Guerra IM, Conte VD, Hoffman SP, Schreiner FJ, Delamare AP, *et al*. Nosocomial and community infections due to class A extended-spectrum _-lactamase (ESBLA)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella spp*. in southern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2011 ; 15 : 138-43.

Y :

Yala D, Merad A.S, Mohamadi D, et Ouar Korich M.N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques, Médecine du Maghreb 91. P1, 2-13.

Annexes

Annexes :

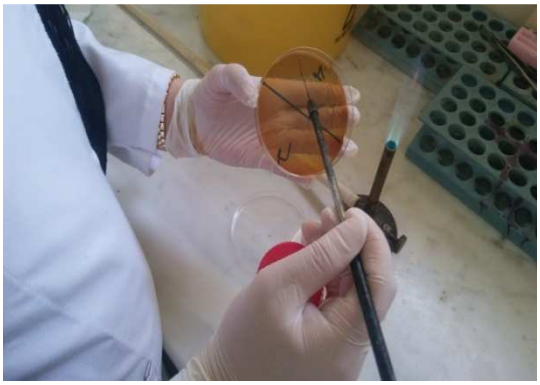
Annexe 1 :



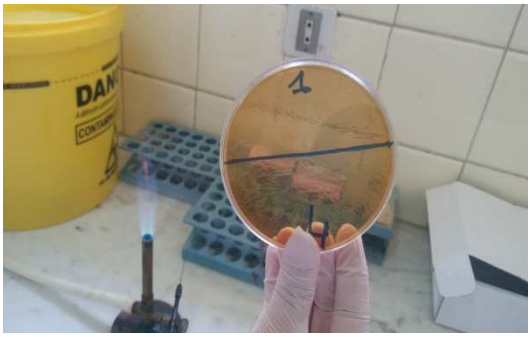












Annexe 2 :







Annexe 3 :



