République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DE SCIENCES

Département de sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention

Du diplôme de Master Académique

En : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliqué

Caractérisation phénotypique des isolats cliniques de Klebsiella Spp multirésistants aux antibiotiques

Encadré par : Mr

Mokhtari Maamer

Présenté par :

Hennaoui meriem & Abed manel

Devant le Jury composé de :

Président : Mr khames Yacine	**(MCB)**	**Université de Médéa**
Co - Promoteur : Mr Rahal Mohamed	**(MCA)**	**Université de Médéa**
Examinateur : Mr Salhi Omar	**(MCA)**	**Université de Blida 1**

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2021/ 2022

Remerciement

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force le courage et la volonté d'accomplir ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont à nos CO-PROMOTEUR

MR RAHAL MOHAMED. Pour nous avoir guidé depuis tout au long de notre travail. Un très grand merci pour votre disponibilité, pour tous vos conseils.

Nos vifs remerciements s'adressent à MRMOKHTARI MAAMAR. Nos promoteur d'avoir consacré un temps précieux et sa contribution à ce travail.

Nos sincères remerciements vont aux membres du jury :

Dr. khames yacine (Président)

Dr SALHI OMAR (Examinateur)

Pour avoir consacrés une partie de leur temps précieux pour examiner notre travail.

Nos grands remerciements sont formulés à tous les enseignants de la spécialité MICROBIOLOGIE APPLIQUEE.

Enfin, tout notre travail s'est déroulé au laboratoire d'analyse médicale

ZITOUNI et nous tenons à remercier tous les membres de l'équipe de ce laboratoire

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicaces

♥ *A ma très chère mère* ♥

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

♥ *A mon très cher père* ♥

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut… Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance…

Je te rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour. Que Dieu tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.

♥*A mon cher frère unique et sa épouse*♥

MEROUANE ♥ *ATIKA*

♥ *A MA très chère sœur et son mec* ♥

RIMA ET FATHI

A MA TRES CHERE SŒUR

BOUCHRA

A mes anges MIRA ET AMIR

♥*A toute ma famille : Ma GRANDE MERE. oncles, tantes, cousins et cousines*♥

A MA TRES CHERE BINOME MANEL

♥*A mes chères copines : DOUNIAZED, KHAOULA ET WIAM*♥

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

♥ ***MERIEM*** ♥

JE DÉDIE CE TRAVAIL

♥ A mes chers parents♥

D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et fidélité, je dédié ce travail à mes très chers parents à Razika et Abd Rezzak.
Pour leurs soutiens constants, leurs amours et leurs mots d'encouragement qui m'ont permis de me rendre ici aujourd'hui,
En ce jour votre fille espérée réaliser l'un de vos plus grands rêves et couronner vos années de sacrifice et d'espoir. Que ce travail puisse être le résultat de vos efforts et de vos sacrifices.
Que Dieu tous vos puissants garde et vos procures santé, bonheur et longue vie.

♥ *A ma très chère mère* ♥

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur

♥ *A mon très cher frère LYES*♥

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour toi. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de sérénité, et longue vie.

♥ *A mes très chères tantes ET ONCLES* ♥

NAWEL, NADJET, SOFIANE, Mustapha et Latif et leurs familles sans exception A toute ma famille : cousins et cousines (Anais , Yousra, Rania, ikou, Lili,) Avec toute mon affection et mon respect.
À toute la famille ABED et la famille CHIKH TOUHAMI Sans oublier ma chére binome Meriem.
et mes copines : LINDA, dounia Zed, Nawel, lamia, cilia, qui m'ont aidé durant toute cette année, et à ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin. réussite et de sérénité.



MANEL

Résume

Klebsiella est un pathogène opportuniste découvert depuis plus d'une centaine d'années. Aujourd'hui elle est parmi les germes responsables des infections

cominautaire severes et difficiles à traiter, des epidemies sont causées par des souches résistantes a une large variété d'antibiotiques La présente étude concerne d'une part, l'isolement de plusieurs souches de Klebsiella

Pneumoniae à partir de divers prélèvements analyses suivie par caractérisation phynotypique des souches identifiée

31 souche a été isolée et identifiée avec le milieu CLED ou hecktoine suivie oat le milieu d'orientation chromogène et le milieu KIA suivi e par une identification BIOCHIMIQUE PAR GALERIE ap20 E

Cette étude nous a montré une prédominance des souches k pneumonie par rapport aux souchesoxytoca a été constaté 87% de plus le sexe féminin a été aussi plus predisposie paraport le sexe masculin alors que le tranche d'âge le plus vulnurable oscillent entre 20-25 ans cette étude ont montré aussi une résistance élevée vis-à-vis la famille de betalactamine (amoxiciline /ampecilline /acideclavulanique) cependant une résistance faible a été constaté vis-à-vis la famille aminoside Polymixines Quinolones Fluoroquinolone (Cotrimoxazole)

ABSTRACT

Klebsiella is an opportunistic pathogen discovered over a hundred years ago. Today it is among the germs responsible for infections

severe and difficult to treat, epidemics are caused by strains resistant to a wide variety of antibiotics The present study concerns on the one hand, the isolation of several strains of Klebsiella

Pneumoniae from various samples analyzes followed by phynotypic characterization of the identified strains

31 strain was isolated and identified with CLED or hecktoin medium followed by chromogenic orientation medium and KIA medium followed by BIOCHEMICAL identification BY GALLERY ap20 E

This study showed us a predominance of k pneumonia strains compared to oxytoca strains was found 87% more the female sex was also more predisposed paraport the male sex while the most vulnerable age group oscillates between 20-25 years this study also showed a high resistance against the betalactamine family (amoxicilin /ampecillin /clavulanic acid) however a weak resistance was found against the aminoside family Polymixines Quinolones Fluoroquinolone (Cotrimoxazole)

ملخص

الكليبسيلا هو مرض انتهازي تم اكتشافه منذ أكثر من مائة عام. اليوم هو من بين الجراثيم المسؤولة عن العدوى شديدة وصعبة العلاج، وتحدث الأوبئة بسبب سلالات مقاومة لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية.هذه الدراسة الحالية تتعلق من جهة بعزل عدة سلالات من كليبسيلا الالتهاب الرئوي من تحليلات عينات مختلفة متبوعًا بتوصيف النمط الظاهري للسلالات المحددة تم عزل 31 سلالة وتحديدها باستخدام وسط CLED أو هيكتوين متبوعًا بوسط توجيه كروموجيني ووسيط KIA متبوعًا بالتعرف الكيميائي الحيوي بواسطة معرض الصورap20 E

أظهرت هذه الدراسة أن غلبة سلالات الالتهاب الرئوي k مقارنة بسلالات الأوكسيتوكا تم العثور على 87 ٪ أكثر من الجنس الأنثوي أيضًا كان أكثر استعدادًا للإشارة إلى جنس الذكور بينما تتأرجح الفئة العمرية الأكثر ضعفًا بين 20-25 عامًا وأظهرت هذه الدراسة أيضًا مقاومة عالية ضد عائلة البيتالاكتامين (أموكسيسيلين / أمبيسيلين / حمض كلافولانيك) ولكن تم العثور على مقاومة ضعيفة ضد عائلة أمينوسيد.

Table des matières

Introduction 1

1 Generalités 4

1.1 Définition Klebsiella spp 4

1.2 Taxonomie 4

1.3 Caractères bactériologiques 5

1.4 Habitat : 5

1.5 Caractères biochimiques : 5

1.6 Caractères différentiels : 6

1.7 Caractères culturaux 7

1.8 Caractères antigéniques : 7

2. Facteurs de pathogénicité 8

2.1 La capsule: 8

2.2 Les pilis ou fimbriaes : 9

2.3 Les sidérophores : 9

2.4 Le lipopolysaccharide 11

2.5 Ilot de pathogénicité 11

2.6 Antigènes de surface 11

2.7 Elément d'intégration et de conjugaison 11

2.8 Les enterotoxines thermostable 11

I. LES ANTIBIOTIQUE 14

1.1 Définition 14

1.2 Classification et mode action 14

1.3 Les familles des antibiotiques 15

II. Résistance des bactéries aux antibiotiques : 22

II.1 Définitions : 22

II.2 Type de résistance 22
II.2.1 Résistance naturelle : 22
II.2.2 Résistance acquise 23
II.2.3 Support génétiques de la résistance 23
II.2.3.1 Mutation chromosomique 23
II.2.3.2 La résistance par acquisition des gènes exogènes 24
1. Bêta-lactamines et K. pneumoniae 25
1.1 Mécanismes de résistance 25
1.1.1 Pénicillinase 25
1.1.2 Céphalosporinase 26
1.1.3 Carbapénamases 26
1.1.4 β-lactamase à spectre élargi (BLSE) 26
1.1.5 Imperméabilité 27
1.1.6 Excrétion par des systèmes d'efflux 27
1.1.7 Modification de PLP 28
1.2 Phénotypes de résistance 28
2. Aminosides et Klebsiella pneumoniae 29
2.1 Résistance de Klebsiella pneumoniae aux aminosides 29
2.1.1 La modification enzymatique des antibiotiques 29
2.1.2 Altération de la cible 30
2.1.3 Piégeage de l'antibiotique 31
2.1.4 Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique 31
2.2 Phénotypes de résistance aux aminosides 31
EPIDIMIOLOGIE 33
1. Europe 33
2. AFRICA 38
2.1 MAROC 38

2.2 Sud d'Afrique 39
3. ASIE 40
3.1 Arabie saoudite (Médina 2014-2018) 40
3.3 LA CHINE 44
3.2 INDIA 45
1. PROBLEMATIQUE 49
2. CADRE D'ETUDE 49
2.1 LIEU DE TRAVAIL 49
2.2 DURÉE DE L'ÉTUDE 49
3. Prélèvement 49
3.1 Types de prélèvements 50
4. Recueil des donnes 51
4.1 Critère d'inclusion 51
4.2 Critères d'exclusion 51
5. Examen bactériologique 51
5.1 Examen macroscopique 51
5.2 Examen microscopique 52
5.3 Mise en culture 52
5.4 Isolement et purification 52
6. Identification des germes bactériens 53
6.1 Examen macroscopique 53
6.2 Coloration de Gram 53
6.3 Tests biochimiques et métaboliques : 54
6.3.1 Oxydase : 54
6.3.2 Test catalase 54
6.4 Identification bacterienne 55
6.4.1 Culture sur milieu hektoen 55

6.4.2 Culture sur milieu CLED 55
6.4.3 Milieu CHROMagar Orientation 55
6.4.4 Le milieu de Hajna-Kligler : 55
6.5 Galerie API 20^{E} 56
6.6 Antibiogramme 57
6.6.1 Test de sensibilité aux antibiotiques : Méthodes de diffusion des disques d'antibiotiques 57
6.6.2 VITEK 2 compact 59
7 Diagnogramme de démarche au laboratoire 62
1 Analyse des prélèvements 63
1.1 Examen macroscopique 63
1.2 COLORATION DE GRAM 64
2 Résultats de l'identification biochimique par galerie API20E 64
3 Résistance de Klebsiella aux antibiotiques 65
3.1 Profils de réponses aux tests d'antibiotiques 65
3.2 Profils de réponses au VITEKS 2 66
4 Répartition des souches de Klebsiella pneumoniae 66
5 Répartition des souches klebsiella selon l'espèce 67
6 Répartition des souches d'klebsiella isolées selon les tranches d'âge 68
7 Répartition des souches d'klebsiella isolées selon l'antibiogramme 68
8 Discussion 73
CONCLUSION 77

Lise des tableaux

Figures	Titres	Page
Tableau 1	Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre Klebsiella	6
Tableau 2	Résumé des facteurs de virulence impliqués dans la pathogenèse de *K.pneumoniae*	12
Tableau 3	Pénames	16
Tableau 4	Céphèmes	17
Tableau 5	Carbapénèmes, oxapénames et monobactames	18
Tableau 6	Glycopeptides et fosfomycine	18
Tableau 7	Polymixines	20
Tableau 8	Quinolones et Fluoroquinolones, Rifamycines, Nitrofuranes, Novobiocine et Nitro-imidazoles.	20
Tableau 9	Sulfamides, Trimethoprime et association	21
Tableau 10	Phénotypes de résistance aux aminosides	29
Tableau 11	Les phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides	32
Tableau 12	Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones	33
Tableau 13	*POURCENTAGE DE RESISTANCE DE KLEBSIELLA EN EUROPE*	36
Tableau 14	Profils de sensibilité aux antimicrobiens de klebsiella isolées à partir d'hémocultures signalées par quatre groupes privés en Afrique du Sud, du 1er janvier 2016 au 31 décembre 2016	42
Tableau 15	Taux de pharmacorésistance des isolats de K. pneumoniae	47
Tableau 16	Tendances de la résistance aux antibiotiques de Klebsiella pneumoniae isolats pour les années 2012-2014 india	48

Tableau 17	Comparaison du taux de résistance aux antibiotiques (%) de K. pneumoniae dans divers hôpitaux de la ville de Shaoxing	49
Tableau 18	Les antibiotiques testés	59
Tableau 19	Les caractères culturaux sur le milieu CLED et milieu Hektoen CHROMOGENE et KIA	68
Tableau 20	Caractères des principaux tests biochimiques à partir de la galerie API20 E	69
Tableau 21	Résultat de la diversité des antibiotipe de klebsiella spp	75

Liste des figures

Figures	Titres	Page
Figure 1	Quatre facteurs de virulence bien caracterises dans le classique et l'hypervirulence souches *K. pneumoniae*	10
Figure 2	Mode d'actions s antibiotiques	15
Figure 3	Les enzymes modificatrices des aminosides	30
Figure 4	Site-A : la région qui porte les ARNr16S méthyltransphérase	31
Figure 5	K. pneumoniae : pourcentage d'isolats invasifs résistants aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime/ceftriaxone/ceftazidime), par pays/zone, Région européenne	38
Figure 6	K. pneumoniae : pourcentage d'isolats invasifs résistants aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime/ceftriaxone/ceftazidime), par pays/zone, Région européenne	39
Figure 7	Profil AMR de la pneumonie à K. sous forme de résistance médiane avec intervalle interquartile. AK Amikacine, AMX-C Amoxicilline-acide clavulanique, AMX amoxicilline, Carb Carbapénèmes, CRO Ceftriaxone, CTX Céfotaxime, CAZ Ceftazidime, CFX Céfoxitine, Cs Colistine, Fluorq Fluoroquinolones, GNGentamicine, NA Acide nalidixique, SXT Triméthoprime-sulfaméthoxazole	40
Figure 8	Prévalence de la résistance croisée aux antimicrobiens parmi isolats de Klebsiella pneumoniae résistants à l'imipénème à King Fahad Hôpital, Médine CST : colistine, TGC : tigécycline, AMK : amikacine, GEN : gentamycine, triméthoprime/sulfaméthoxazole,	43
Figure 9	Tendances de la prévalence de la résistance aux antibiotiques de K.pneumoniae à l'hôpital King Fahad de Médine	46
Figure 10	Tendances de la résistance aux antibiotiques des isolats de Klebsiella pneumoniae dans les échantillons d'urine au cours des 3 dernières années de 2012 à 2014	48
Figure 11	11Prélèvement d'une coloni destinée à partir d'une culture sur gélose. à l'observation microscopique à l'état frais	55
Figure 12	Dépôt de lamelle sur lame à l'observation	55

Figure 13	ASPECT DES COLONIE SUR MILIEU KIA	58
Figure 14	**API 20E positive vs négative**	58
Figure 15	Automate VITEK 2 Compact (photo prise au LRM le 04/10/2019)	61
Figure 16	Aspect des colonies sur milieu Hektoen (*K. pneumoniae*	67
Figure 17	aspect des colinie (*K. pneumoniae* MILIEU CLED)	67
Figure 18	aspect des colonies sur milieu chromogene	67
Figure 19	Observation microscopique de la coloration de Gram à l'objectif x100	68
Figure 20	Profil biochimique de la souche *Klebsiella oxytoca*	69
Figure 21	Profil biochimique de la souche *Klebsiella pneumoniae*	69
Figure 22	réponses se sensibilité ou de résistance	70
Figure 23	Rapport de laboratoire de l'automate Vitek 2 compact de *K. pneumoniae*	70
Figure 24	Distribution globale des souches de *Klebsiella* selon le sexe	71
Figure 25	Répartition des souches *klebsiella* selon lespece	72
Figure 26	Répartition des souches d'*klebsiella* isolées selon les tranches d'âge	72
Figure 27	Répartition des souches d'*klebsiella* isolées selon lantibiogramme FAMILLE BETALACTAMINE	73
Figure 28	Répartition des souches d'*klebsiella* isolées selon lantibiogramme	74

LISTE DES ABRÉVIATIONS :

- ADH : Arginine dihydrolase
- ADN : Acidedésoxyribonucléique
- ACC-1: AmblerClassC
- ACT-1: AmpCType
- AX : Amoxicilline
- AMC: Amoxicilline + acide clavulanique.
- AMP : Ampiciline.
- AMX: Amoxicilline
- AN: Amikacine
- ATB: Antibiotique
- ATCC:AmericanTypeCulture Collection
- ATM: Aztréonam
- BHIB:brain-heartinfusionbroth
- BLSE: Bêta- lactamase à spectre Elargi ou Etendu
- C1G: Céphalosporinede 1èregeneration
- C2G: Céphalosporinede 2èmegeneration
- C3G: Céphalosporinede 3èmegeneration
- C4G: Céphalosporinede 4èmegeneration
- C° : Degré Celsius
- CASE: céphalosporinasehyper produite
- CA-SFM: Comité d'antibiogramme- société française de microbiologie
- CAZ: Céftazidime
- CZ : céfazoline

- CPM : céfépime
- CTX : céfotaxime
- CAZ: Céftazidime
- CIP: Ciprofloxacine
- CHU : Centre hospitalo-universitaire
- CIP: Ciprofloxacine
- □CN : Céfalexine
- CIT: Citrate
- CMI: Concentration minimale inhibitrice
- CMY-2:Cephamycinase-2
- CS: Colistine
- CTX: Céfotaxime
- CAX : ceftriaxone
- CXM : céfuroxime
- CTX-M: Céfotaximase-Munich
- D-ala:D-alanine
- DHA:Dharhanhospital
- DO: Densité optique
- EDTA:Ethylenediamintetraaceticacid
- ETP :Ertapénème
- FOX: Céfoxitine .
- FQ: fluoroquinolones
- GEL: Gélatine
- GES: GuyanaExtended-Spectrum–lactamase
- GN: Gentamicine
- H:heure
- H2S:sulfure d'hydrogène
- I: Intermédiaire
- IMP: Imipenème
- IND: Indole
- INO: Inositol
- Kp. :*Klebsiella pneumoniae*

- LB: Luria broth
- LDC: Lysine décarboxylase
- LPS:lipo-polysaccharide
- Mg: milligramme
- M H: Mueller -Hinton
- MIR-1:Miriamhospital
- mm:millimèttre
- mn:minutes
- NA: Acide nalidixiquue
- nm:nanomèttre
- ODC: Ornithine
- ONpG:Orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside
- OXA:Oxacillinase
- PCR: Amplification en *chaîne* par polymérase
- TZP : Pipéracilline + tazobactam .
- PLP: Protéine liant les pénicillines
- R: Résistance naturelle
- S: Sensible
- SHV :SulfHydrylVariable
- SOR: Sorbitol
- Sub sp: sous espèce
- TDA: Tryptophane désaminase
- TEM :TEMoneira-nom dupatient
- TSI: Triple Sucre à Identifié
- UFC: Unité Formant colonie
- URE: Urée
- Vp: Sodium pyruvate
- µg:microgramme
- % : pourcentage
- CTX-M: Céfotaximase-Munich
- D-ala:D-alanine
- DHA:Dharhanhospital

INTRODUCTION

Introduction

Globalement, à partir du XXè siècle, mais surtout dans sa deuxième moitié, un ensemble de mesures ont permis aux êtres humains de mieux se défendre face aux maladies infectieuses.

L'infection microbienne occupe actuellement la première place dans les pathologies médicales. Elle est connue depuis longtemps, et depuis l'utilisation des antibiotiques, elle a 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 spp CISSE H.A., 2006

Klebsiella spp. Appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae et sont des bacilles à Gram négatif, capsulés et immobiles.les *Klebsielles* sont des bactéries commensale présente dans les voies gastro-intestinales et respiratoires et sur la peau des sujets sains.

Elles sont également omniprésent dans l'environnement sont des bactéries très répandues dans la nature (l'eau, le sol, les végétaux, la flore fécale des animaux). *Klebsiella* spp C'est un pathogène opportuniste capable de provoquer ou fréquemment impliqué dans un large éventail dans les infections sévères notamment à l'origine de pneumonies nosocomiales (7 à 14 % de tous les cas), de septicémies (4 à 15 %), d'infections urinaires (6 à 17 %), d'infections de plaies (2 à 4 %), d'infections survenant dans les unités de soins intensifs (USI) (4 à 17 %) et de septicémies néonatales (3 à 20 %) références. Elles peuvent également causer des bactériémies et des infections hépatiques et ont été isolées dans un grand nombre d'infections inhabituelles, notamment des cas d'endocardite, d'abcès médiastinal primaire gazeux, de péritonite, de cholécystite aiguë, de myonécrose crépitante, de pyomyosite, de fasciite nécrosante, d'abcès du psoas, d'infection de l'espace fascial au niveau de la tête et du cou, et d'arthrite septique

C'est l'une des bactéries la plus couramment rencontrée par les cliniciens qui est responsable des épidémies nosocomiales en raison de la propagation de différentes souche associée a des infections opportunistes les personnes ayant un système immunitaire affaibli, comme les diabétiques et les alcooliques. Elle peut se propager rapidement entre les patients hospitalisés surtout dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques résumé

La phatogenecite klebsiallaa été attribuée à plusieurs facteur qui lui permettent de s'échappe mécanismes immunitaire innée de Lhote (broberg et al. 2014) parmi ces facteur en distingue des

adhésines, des sidérophores, des polysaccharides capsulaires, des lipopolysaccharides de surface cellulaire (LSP) et des toxines, qui jouent chacun un rôle particulier dans la pathogenèse associée à ces espèces. Selon le type d'infection et le mode d'ineffectivité Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006)

La prévalence croissante de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est un problème crucial de santé publique Les infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques sont associées à une morbidité et à une mortalité importantes dans le monde entier [1].

La multi résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries et en particulier chez klebsiella.spp. Est en perpétuelle évolution. Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE), récemment s'ajoute la résistance aux fluoroquinolones (Ben Haj Khalifa et al, 2010).K. pneumoniae producteur de β-lactamase à spectre élargi engendre, partout dans le monde, des infections nosocomiales d'allure le plus souvent endémique avec des bouffées épidémique (Boukadida et al, 2002).

La résistance aux antibiotiques augmente de façon très inquiétante, (Carlet et al, 2012). Constitue une menace importante pour la santé publique, puisque des souches de K.pneumoniae BLSE+ résistantes à toutes les β-lactamines ont été isolées, d'après le Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN) de France, en 2001. Au niveau national, et selon le réseau de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (2007-2008), sur 3277 bactéries multi résistantes toutes espèces confondues, isolées en milieu hospitalier et sur un effectif global de 13620 isolats, K p vient en tête avec 31,5% des cas. Le réseau rapporte aussi que 46,2% des souches des K.p isolées à l'hôpital sont des BLSE. Les souches résistantes aux β-lactamines sont souvent résistantes aux autres familles d'antibiotiques laissant le champ thérapeutique très réduit.

Dans cette optique notre étude s'est fixé les objectifs suivants :

L'isolement et l'identification des souches de Klebsiella spp

Caractéristiques phénotypiques isolat clinique klebsiella spp

CHAPITRE I

GENERALITE

1 Generalités

1.1 Définition Klebsiella spp

Le genre *Klebsiella*, de la famille des *Enterobacteriaceae*, a été nommé par Trevisan (1885) en l'honneur du microbiologiste allemand Edwin Klebs (1834-1913). L'espèce type est Klebsiella pneumoniae (Schroeter, 1886; Trevisan, 1887). La première espèce de Klebsiella jamais décrite était un bacille capsulé provenant de patients atteints de rhinosclérome (Von Frisch, 1882). L'organisme a été nommé "Klebsiella rhinoscleromatis" par Trevisan (1887).

Abel (1893) a observé un bacille capsulé, "Bacillus mucosus ozaenae" à partir de la sécrétion nasale de patients atteints d'ozaena. La bactérie a ensuite été transférée au genre Klebsiella sous le nom de K. ozaenae (Bergey et al., 1925).

Friedländer (1982) a décrit une bactérie dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie. L'organisme a été nommé "Hyalococcus pneumoniae" (Schroeter, 1889) et Klebsiella pneumoniae (Trevisan, 1887). Une confusion considérable s'est produite pendant de nombreuses années car l'organisme ne pouvait pas être objectivement séparé.

1.2 Taxonomie

Le genre Klebsiella fait partie de la famille des Entérobactériaceae, au sein de laquelle il regroupe avec le genre Shigella des espèces immobiles.

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma Proteobacteria

- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : Klebsiella
- Espèce : il existe plusieurs notamment :

- K. pneumoniae comportant trois sous-espèces : (Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae, Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae, Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis), Klebsiella oxytoca, Klebsiella ornithinolytica, Klebsiella planticola, Klebsiella terrigena, Klebsiella granulomatis, Klebsiella variicola, Klebsiella singaporensis.

1.3 Caractères bactériologiques

Morphologie

Le genre Klebsiella rassemble des bacilles à Gram négatif de 0.3 à 1.0µm dediamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courtes chaînes Ce sont des bactéries immobiles, non sporulées, aero-anaérobies facultatifs et présentant les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae (Ayan M, 2003; Jonas et al., 2004)

1.4 Habitat :

Klebsiella est un agent pathogène opportuniste commun chez l'homme et d'autres animaux, en plus d'être une flore résidente ou transitoire (en particulier dans le tractus gastro-intestinal). Les autres habitats comprennent les eaux usées, l'eau potable, les sols, les eaux de surface et la végétation. K. pneumoniae subsp. pneumoniae est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sols, d'eaux de surface, eaux usées, de la végétation et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. Chez l'homme cette espèce est isolée des selles chez 30% des individus et est isolée dans certaines circonstances pathologiques communautaires et nosocomiales. Au cours des infections nosocomiales, le tube digestif des patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales [19].

Les associations d'habitat général des espèces de Klebsiella sont les suivantes: K. pneumoniae l'homme, les animaux, les eaux usées et les eaux et sols pollués; K. oxytoca association fréquente avec la plupart des habitats; K. terrigena eaux de surface et sols non pollués, eau potable et végétation; K. planticola eaux usées, eaux de surface, sols et végétation pollués; et K. ozaenae / K. rhinoscleromatis peu souvent détecté (principalement chez l'homme)

1.5 Caractères biochimiques :

Bactéries non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives.

Klebsiella oxytoca et Klebsiella pneumoniae donnent une réponse positive aux tests ONPG, LDC et assimilation du citrate ainsi qu'aux tests VP et uréase

- Fermentation des sucres : glucose+
- Métabolisme du tryptophane en indole : indole-
- ONPG +
- Production du gaz (+)
- Mobilité(-)
- VP(+)
- TDA-
- H2S(-)
- ODC(-)
- ADH(-)
- LDC(+)
- Citrate (+) (Joly et Reynaud, 2002).

1.6 Caractères différentiels :

Tableau 1 : Caractères biochimiques d'identification des espèces du genre Klebsiella

Test	K. pneumoniae			Klebsiella oxytoca	Klebsiella terrigena	Klebsiella planticola	Klebsiella ornithinolytica
	subsp. pneumonia	subsp. ozaenae	subsp. rhinocleromatis				
Indole	-	-	-	+	-	d	+
ODC	-	-	-	-	-	-	+
LDC	+	D	-	+	+	+	+
VP	+	-	-	+	+	+	+
Croissa nce et ferme ntation du glucose à :							
4° C	-	-	-	-	+	+	+
10° C	-	-	-	+	+	+	+
41° C	+	+	+	+	-	+	+

1.7 Caractères culturaux

Sur les milieux classiques d'isolement pour entérobactérie (Drigalski, Hektoen, Mac Conkey, EMB) après une incubation de 18 à 24 h à 30 ou à 37 °C,

Les colonies sont d'un diamètre de 3 à 4 mm apparaissent rondes bombées, d'aspect plus ou moins muqueux

La majorité des souches sont capsulées la presence d'une capsule rend les colonies muqueuse parfoit filante la capsule est favorise par des millieu saccharose tel (milieu de Hajna ou milieu hypersaccharosé de Worfel-Ferguson): En revanche, la culture dans un bouillon bilié à 5% favorise l'évolution vers des formes non capsulées.

Quelque variante uréase négative de K.p: Certaines souches de K.p peuvent paraître <<uréase->> après 24 à 37°C si on utilise des cultures sur gélose nutritive et un milieu réactif à l'urée de type Ferguson (par exemple, milieu uréeindole).

Chez plus de la moitié de ces souches l'uréase peut être mise en évidence en quelques heures, lorsqu'elles ont été cultivées sur des milieux contenant des sucres fermentescibles

Sur les milieux contenant du lactose et un indicateur de pH, les colonies apparaissent lactose positif (Le Minor et al., 1990; Fauchère et Avril, 2002)

En milieu liquide (bouillon nutritif, eau peptonée), la culture est rapide (quelques heures) à 30° et 37°C pour K. p avec parfois dépôt muqueux et collerette visqueuse en surface. A la différence des autres espèces de Klebsiella,

1.8 Caractères antigéniques :

Le genre Klebsiella possède des antigènes O, K et Vi. La recherche des antigènes O présente peu d'intérêt pratique, en raison de leur nombre réduit et de la difficulté de leur détermination. La recherche des antigènes K sont recherchés par agglutination sur lame ou en tubes, ou encore par la réaction de Neufeld dite du « gonflement de la capsule est faite en tenant compte du caractère thermostable. Le typage antigénique capsulaire peut aussi être effectué par immunofluorescence indirecte à pH 9, par immuno- électrophorèse à contre-courant, par coagglutination de la souche de Cowan de Staphylococcus aureus enrobée d'anticorps anticapsulaire, par agglutination de particules de latex sensibilisées

: LE MINOR (L). Bactériologie médicale, Paris : Flammarion, 1992, 427-31p 77 types capsulaires sont observés : K1 à K72, K74, K79 à K82.

Les souches les plus souvent pathogènes pour l'homme et les animaux appartiennent au type capsulaire 1 et 2. Les antigènes d'adhérence ou de surface sont de nature protéinique et sont portés par les pili communs (Nouri et Ziadi,

2015).

2. Facteurs de pathogénicité

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 (21).

-d'occuper une niche chez l'hôte (colonisation), ce qui se passe par l'attachement à ses cellules;

-d'échapper au système immunitaire de l'hôte (immunoévasion);

-d'inhiber le système immunitaire de l'hôte (immunosuppression);

-d'entrer et de sortir des cellules de l'hôte dans le cas d'infections intracellulaires (typiquement pour les virus)

-d'absorber les nutriments de l'hôte

2.1 La capsule:

La capsule est essentielle à la virulence des Klebsielles. Elle forme d'épais faisceaux de structure fibrillaire couvrant la surface bactérienne en couche épaisse et dense de nature polysaccharidique qui protège la bactérie de la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles. In vitro, la présence d'une capsule diminue l'attachement aux cellules intestinales HCT-8 et aux cellules T-24, toutefois, in vitro, 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 et que les types capsulaires K1, K1, Ki et K5 sont les plus pathogènes outre leurs fonctions antiphagocytaires r]. La capsule polysaccharidique de

Klebsiella inhibe la différenciation et la capacité fonctionnelle des macrophages. L'infection par fortes doses de ces capsules polysaccharidiques peut même provoquer une paralysie immunitaire

2.2 Les pilis ou fimbriaes :

Les propriétés adhésives des Klebsiella sont aussi caractérisées par une projection filamenteuse à la surface bactérienne. Ces structures ont un diamètre de 1 à 11 nm avec une longueur de 10 microns [19]. Elles sont constituées de sous unités de polymères protéiques globulaires ayant une masse moléculaire de 15 à 26 Kd [20]. Les pilis ont une capacité à s'agglutiner aux érythrocytes de différentes espèces animales. En se basant sur l'inhibition par leD-mannose, ces adhésines sont désignées hémagglutinines sensibles ou résistantes au mannose [2].

Parmi les types de pili de Klebsiella sp, il existe 2 types prédominants:

• Type 1: sont les plus étudiés des adhésines bactériennes et sont les mieux connus et présents chez la majorité des entérobactéries Ces molécules jouent un rôle essentiel dans la première étape du processus infectieux, aussi impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire et aux cellules vésicales

[site2]. Ces pilis sont sensibles au D-mannose sont des structures protéiques non flagellaires et filamenteuses formant des appendices à la surface des bactéries qui ont la capacité d'agglutiner les érythrocytes. La protéine d'adhésion de ce type de pili est localisée sur l'axe du pili et est capable de s'attacher aux trisaccharides contenant le mannose des glycoprotéines de l'hôte [2].

• Type3: sont moins bien connues contrairement à d'autre pilis, ce type s'agglutine seulement à des érythrocytes traités par le Tannin. Malgré son nom « hémagglutinine de Klebsiella résistant au mannose» qui implique qu'il est synthétisé seulement par Klebsiella, Leur rôle comme facteur de virulence reste hypothétique dans plusieurs modèles d'infections (urinaire, pulmonaire). Néanmoins, du fait que ces structures semblent faciliter l'adhésion à des supports inertes et avoir un rôle dans la formation de biofilm 29

2.3 Les sidérophores :

La croissance des bactéries dans les tissus de l'hôte est limitée non seulement par les mécanismes de défense de l'hôte, mais aussi par son supplément en fer disponible. Le fer 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 et K. oxytoca sont aptes à synthétiser trois sidérophores [site 2]. Ces sidérophores sont des chélateurs de fer spécifiques de

faible poids moléculaire secrétés pour assurer un supplément en fer dans l'environnement de l'hôte par liaison compétitive au fer attaché aux protéines de l'hôte

[2]. Le niveau de fer libre disponible (10-8 M) est trop faible pour une croissance bactérienne normale [site 2].

L'effet marqué de l'approvisionnement en fer chez l'organisme hôte dans la pathogénicité des infections a été démontré pour Klebsiella, après l'administration de fer dans un modèle de cochon d'inde, la susceptibilité aux infections à K. pneumoniae à augmenter de façonspectaculaire. La grande majorité des souches synthétisent de l'entérobactine; son rôle dans la virulence est encore mal connu; dans le sérum ce sidérophore est inactivé par l'albumine et des antigènes A, cependant l'entérobactine semble être un facteur de virulence important dans les infections urinaires. La ferrioxamine et l'aerobactine sont les plus importants sidérophores, contrairement aux entérobactines, la contribution de l'aerobactine à la virulence bactérienne a été clairement démontrée. L'aerobactine dont l'introduction des plasmides codant pour ce sidérophore dans une souche qui en est dépourvue permet d'augmenter la virulence

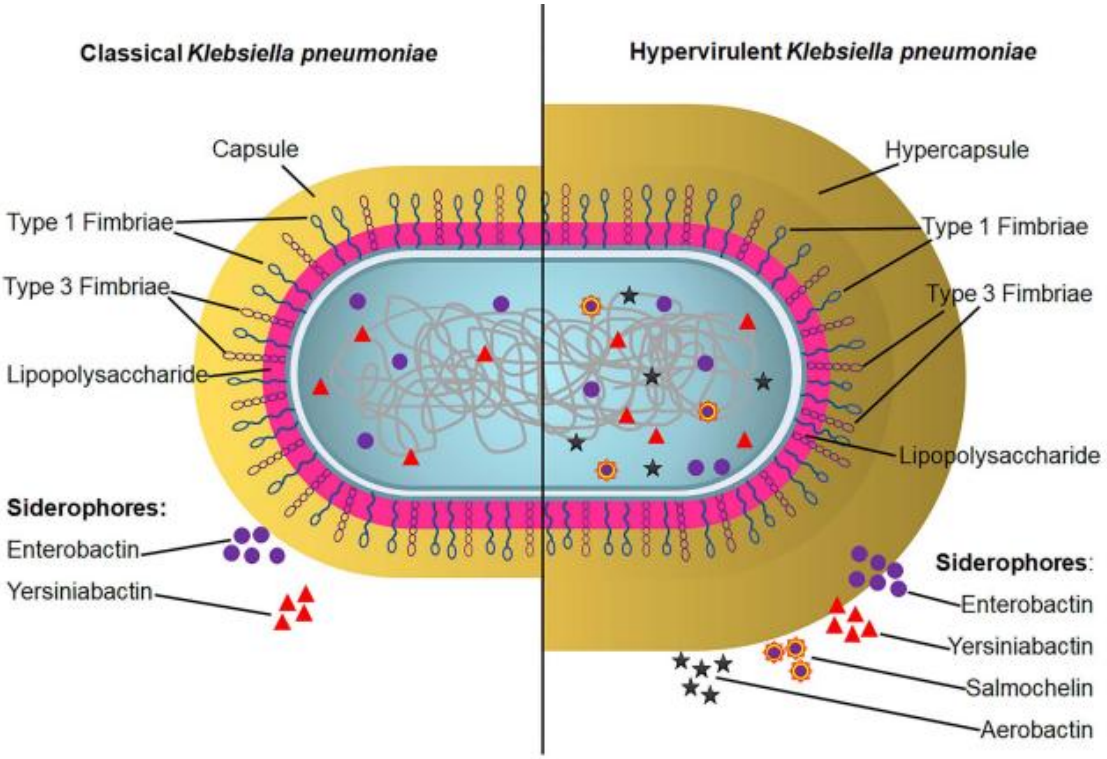


Figure 1. Important virulence determinants in classical and hypervirulent *K. pneumoniae* strains responsible for establishing infection and successful survival inside the host.

Figure 1 : Quatre facteurs de virulence bien caracterises dans le classique et l'hypervirulence souches *K. pneumoniae* (Sabeeha Ali et al2022)

2.4 Le lipopolysaccharide

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

2.5 Ilot de pathogénicité

C'est un grand fragment chromosomique d'ADN (35-45kb), il porte les gènes de virulence, en particulier le locus de la yersiniabactine indispensable à l'expression du phénotype hypervirulent de Yersinia sp, il s'insère au niveau de la terminaison 3' du gène de l'ARNt, (iii) le taux de G+C% est différent de celui du reste du chromosome et il est flanqué de séquences répétées.

Sa fonction essentielle est de capter des molécules de fer essentielles à la croissance et à la dissémination de la bactérie (30).

2.6 Antigènes de surface

Deux types d'antigènes sont exprimés à la surface de K. pneumoniae. Ces deux antigènes contribuent à la pathogénie de cette bactérie. Le premier est l'antigène "O" qui est le composant du lipopolysaccharide et dont 9 types ont été identifiés. Le second est l'antigène capsulaire (K), un polysaccharide capsulaire dont 82 ont été décrits et 77 caractérisés.

2.7 Elément d'intégration et de conjugaison

Le transfert horizontal de gènes intra-espèces et inter-espèces joue un rôle essentiel dans l'évolution et la capacité d'adaptation des bactéries (De la Cruz et Davies, 2000). Trois mécanismes principaux permettent aux souches bactériennes d'acquérir des gènes par transfert horizontal et de répondre ainsi rapidement aux défis et stress environnementaux. Il s'agit de : la transformation, la transduction et la conjugaison (Hacker et Kaper, 2000).

2.8 Les enterotoxines thermostable

Les entérotoxines thermostables (ST) d'Escherichia coli sont classées en STa et STb selon leurs caractéristiques physicochimiques et biologiques. STa induit la diarrhée, activant le système

guanylate cyclase-cGMP. Les entérotoxines de type ST peuvent être produites par des bactéries autres que E. coli, y compris Klebsiella pneumoniae. Il a déjà été démontré qu'une Klebsiella ST partage certaines caractéristiques chimiques et immunologiques avec E. coli ST.

Une purification partielle a été effectuée à l'aide d'une précipitation à l'acétone suivie de techniques d'ultrafiltration et de filtration sur gel.Nous concluons que K. pneumoniae peut induire une diarrhée par la production d'une STa similaire mais non identique à E. coli STa. A Guarino et al, 1989

Tableau 2 : Représentation schématique des facteurs de pathogénicité de K. et leur role dans la phatogenese

Facteur de virulence	Role de facteur dans la phatognese
Capsule	Inhibe et ivite la phagocytose par les cellules hôtes neutralise le peptide antibactériennes et l'activité de complément
Sedirophore	Récupère le fer essentiel la survie ; phénotype hyper mucoviscous ont été lies a un et augmentation de l'activité de liaison au fer
Fimbriae detype 1	Ils ont la plus grande capacite dadhesion ; ils sont impliquee dans la colonisation des tractus respiratoire et urinaire
Fimbriae detype3	Important pour la formation de biofilm sur les surfaces biotique et abiotique
Lps	L'antigène O fournit une résistance au sérum
Formation de biofilm	La formation favorise la résistance aux mécanismes de défense de Lhote et aux antibiotiques

CHAPITRE II

LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

I. LES ANTIBIOTIQUE

1.1 Définition

Le terme antibiotique a été inventé à partir du mot (antibiosis) ce qui signifie littéralement (contre la vie) (russel.2004) On appelle « Antibiotique »toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne

- Activité en milieu organique

Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

Classification et mode d'action des antibiotiques 39

Leur classification peut se faire principalement sur la base de la nature chimique .le site daction ou le mode d'action (demore et al.2012)

1.2 Classification et mode action

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

Origine :

Élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)

Mode d'action :

Paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

Spectre d'activité :

Liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

Nature chimique :

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a émis synthèse.

Mode d'action

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

● Toxicité sélective au niveau de la :

- Synthèse de la paroi bactérienne - Membrane cytoplasmique - Synthèse des protéines - Acides nucléiques

● Inhibition compétitive : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie

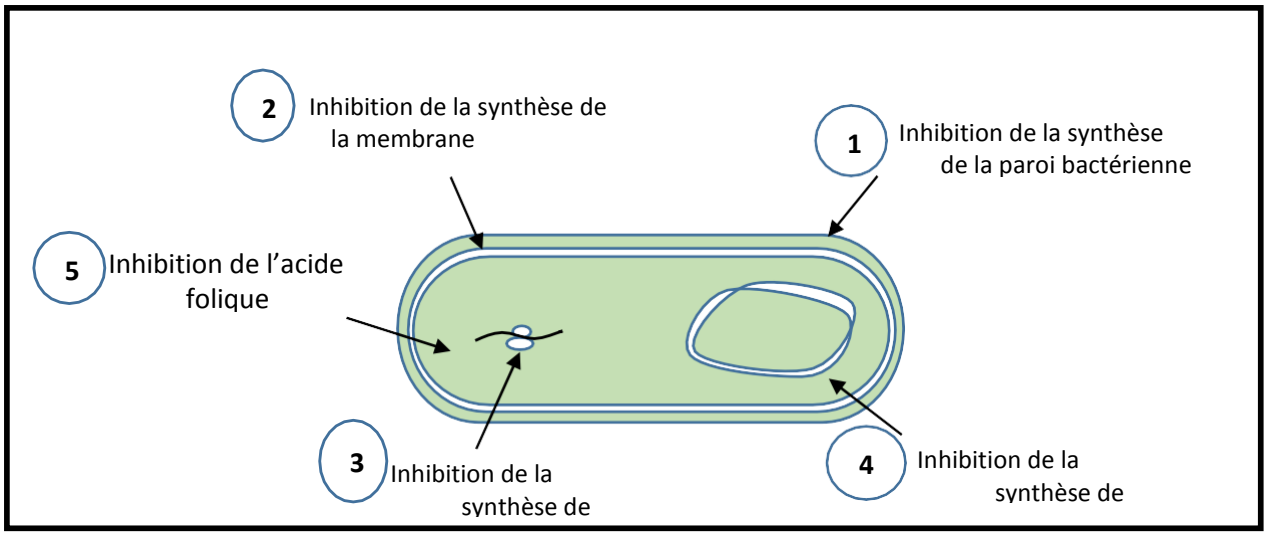


Figure 02 : Mode d'action des antibiotiques

1.3 Les familles des antibiotiques

Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane β

lactamines, glycopeptides et fosfomycine.

II.1Les β lactamine : Il s'agit d'une famille qui comprend 5 groupes majeurs

Les Pénames, les pénèmes, les oxapénames, les céphèmes et les monobactames.

Pénames

Ce groupe d'antibiotiques se subdivise en plusieurs sous-groupes représentés sur les tableaux suivants.

Tableau 3 : Pénames

Sous groupes	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Pénicilline G et ses dérivés	Parentérales : -Benzyl Pénicilline (péni G) -Benzyl Pénicillineprocaine -Bénéthamine-benzylpénicilline -Benzathine-benzyl pénicilline	Cocci Gram + : Streptocoques (groupe A, C, G et B), Pneumocoques sensibles. Cocci Gram- : Neisseria (surtout le méningocoque). Bacilles Gram+: Corynebacterium diphteriae, Bacillus anthracis Listeria monocytogenes , Anaérobies……	Paroi bactérienne, par toxicité sélective : Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes bizaroides (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne.
	Orales : Phénoxy méthyle pénicilline (pénicilline V) Clométocilline		
Pénicillines M (antistaphylococciques)	Méthicilline Oxacilline Isoxazolyl-pénicillines) : Cloxacilline, Dicloxacilline, Flucloxacilline…….	Staphylocoque producteur de pénicillinase. Staphylocoque MRSA-(sensibles à l'Oxacilline)	
Aminopénicillines (pénicillines à large spectre)	Ampicilline Dérivés de l'ampicilline : Bacampicilline,Métampicilli Pivampicilline, Pivampicilline Amoxicilline, Epicilline	-Entérobactéries sauf : Klebsiella,Enterobacter, Serratia net Protéus indole+ . -Neisseria méningitidis,Haemophilus influenzae b sensible (pénicillinase-) -Inactifs sur Pseudomonas et Acinetobacter Streptocoquesa A, C, G	
Carboxy-pénicillines	- Carbénicilline, Ticarcilline	-Pseudomonas aeruginosa). -Bacilles à Gram- résistants à l'ampicilline. -Entérobactéries productrices de céphalosporinases : Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Proteus indole+.	
Acyl-amino-pénicillines (Uréido-pénicillines)	Azlocilline Mezlocilline Pipéracilline	Entérobactéries productrices de céphalosporinases. Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter	
Amidino-pénicillines	- Mécillinam -Pivmécillinam	Actifs uniquement sur les bacilles à Gram-, Pas d'action sur les Cocci à Gram+.	
Pénicillines sulfones : inhibiteurs de β lactamases utilisées en association avec une β lactamine	Ampicilline+Sulbactam Pipéracilline+Tazobactam	Bactéries à Gram- fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	

Céphèmes

En général les céphèmes, céphamycines et oxa1céphèmes, en dépit de leurs différences de structure sont souvent désignés en céphalosporines et classés selon leur activité antibactérienne en générations (5.8.12). Ce sont tous des produits à large spectre mais dont l'intérêt réside surtout dans leur activité sur les bacilles à Gram négatif.

Tableau 4 : Céphèmes

Générations	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Céphalosporines de 1ère génération	Injectables,instables métaboliquement Céfalotine, Céfacétrile, Céfapirine Injectables, stables métaboliquement Céfaloridine, Céfazoline Céphalosporines orales: Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil, Céfaclor	-Staphylocoque MRSA- -Streptocoques (sauf entérocoques) -H.Influenzae -Certains bacilles à Gram -(E.coli, Proteus mirabilis, salmonelles…….) -Inactifs sur Pseudomonas aeruginosa	Le mode d'action des céphalosporines est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir pénames)
Céphalosporines de 2ème génération	Injectables Céfoxitine (Céfamycine) Céfuroxime, Céfamandole	-Staphylocoque MRSA-Streptocoques groupe A -Streptococcus pneumoniae -Haemophilus Influenzae -Bacilles à Gram- -Inactifs sur Pseudomonas aeruginosa	
Céphalosporines de 3ème génération	Injectables Céfotaxime, Céftizoxime, Céftriaxone Latamoxef (Oxacephem), Ceftazidime Cefménoxime, Cefpirome, Cefsulodine Cefepime, Cefpirone Orales: Céfixime	-Bacilles à Gram- -Cocci à Gram +:Pneumocoque, Streptocoque (sauf Entérocoque) -Cocci à Gram - -Certains sont actifs sur Pseudomonas (Ceftazidime).	
Autres Céphalosporines	Céfopérazone,Céfotiam, Céfotétan(céphamycine),Céf sulodine	Pseudomonas, Cocci à Gram-, entérobactéries.	

Tableau 5 : Carbapénèmes, oxapénames et monobactames

Groupe	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Carbapénèmes	Imipénème , Méropénème Ertapénème, Faropenem	Bactéries à Gram- y compris Pseudomonas aeruginosa	Le mode d'action de ces antibiotiques est identique au mode d'action des autres β lactamines (voir Pénames)
Oxapénames ou clavams (acide clavulanique inhibiteurs de β lactamases utilisés en association avec une β lactamine	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline + Acide clavulanique	Bactéries à Gram- fermentaires Bactéries à Gram- oxydatifs	
Monobactames	- Aztréonam	Actif uniquement sur les bacilles à Gram-y compris Pseudomonas aeruginosa.	

Tableau 6 : Glycopeptides et fosfomycine

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Glycopeptides	-Vancomycine -Teicoplanine	Bactéries à Gram+ et essentiellement: -Staphylocoques MRSA+ Entérocoques Pneumocoque résistant aux pénicillines	paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe.
Non classé	Fosfomycine	Staphylococcus aureus et Streptococcus pneumoniae Entérobactéries sauf M.morganii. N.meningitidis, Pasteurella et Pseudomonas aeruginosa	Paroi bactérienne à un stade précoce lors de sa synthèse.

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Aminosides (5, 8,12) Les aminosides sont souvent utilisés en association avec d'autres antibiotiques (β lactamines)	-Streptomycine, dihydrostreptomycine -Néomycine, Paromomycine Framycétine (voie locale). -Kanamycine, Tobramycine Dibékacine, Amikacine -Gentamicine, Sisomycine, Nétilmicine	Cocci et bacilles à Gram+. Cocci et bacilles à Gram-, Mycobactéries (streptomycine, kanamycine). Les anaérobies et les streptocoques sont résistants.	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.
	- Spectinomycine	Neisseria gonorrhoeae	

MacrolidesLincosamides-Streptogramine s (MLS)	Macrolides vrais : 14atomes:Erythromycine,Oléandomycine Roxithromycine, Clarithromycine, Dirithromycine 15atomes:Azithromycine 16atomes: Josamycine, Spiramycine Midécamycine	Cocci à Gram + : Staphylocoque MRSA-, Streptocoque Cocci àGram-: Neisseria, Moraxelles Bacilles à Gram+: Corynebacterium diphteriae, Listeria monocytogenes, Bacillus Certains bacilles à Gram- : Campylobacter, Helicobacter, Legionella Certains anaérobies: Eubacterium, Propionibacterium Autres bactéries: Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia, Borrelia.	Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaine polypeptidique en formation
	Lincosamides : -Lincomycine, Clindamycine (c'est le	Staphylocoque, Streptocoque. les lincosamides sont inactifs sur les entérocoques.	
	Streptogramines : Pristinamycine,Virginiamycine Quinupristine-Dalfoprystine	Staphylocoque et autres Cocci à Gram+	
Tetracyclines	-Oxytetracycline, Chlortetracycline. -Doxycycline, Minocycline -Glycylcyclines	-Bactéries à multiplication intracellulaire : Chlamydia, Brucella, Rickettsia, Mycoplasma, Borrélia, Leptospira,pasteurella... -Bactéries à Gram+ et – : Neisseria gonorrhoeae, Bacillus anthracis, Francisella tularensis,Yersinia pestis	Sous unité 30S du ribosome. inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARNt
Phénicolés	-Chloramphénicol -Thiamphénicol	Bactéries à Gram+ et - En Algérie ils sont réservés au traitement de la fièvre typhoparatyphoïdique.	Sous unité 50S du ribosome. inhibition de la polymérase.
Oxazolidinones:	- Linézolide	Bactéries à Gram+ résistantes aux traitements habituels y compris les multi résistantes.	Ils interagissent avec l'unité ribosomale 50S et ont un mécanisme d'action non encore complètement élucidé.
Antibiotique non classé	Acide fucidique	Bactéries à Gram+, surtout utilisé comme anti staphylococcique.	C'est un inhibiteur de la synthèse protéique interférant avec le facteur d'élongation G (EF-G).

Inhibiteurs de la synthèse des protéines :

Aminosides, Macrolides-Lincosamides- Streptogramines (MLS), Tétracyclines, Phénicolés

Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires :

Tableau 7 : Polymixines (4,5)

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Polymixines	Polymixine B Polymixine E ou colistine	Bacilles à Gram- sauf : Proteus, Providentia, Serratia marcescens Morganella morganii et Edwardsiella tarda Les bactéries à Gram+ et les mycobactéries sont naturellement résistantes.	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.

Inhibiteurs des acides nucléiques :

Tableau 8 : Quinolones et Fluoroquinolones, Rifamycines, Nitrofuranes, Novobiocine et Nitro-imidazoles.

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Quinolones (5,8)	Acide nalidixique, Acide pipémidique, Acide oxolinique, Fluméquine	Entérobactéries Les Gram+ sont résistantes	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV.
Fluoroquinolones (3,5)	- Péfloxacine, Ofloxacine Norfloxacine, Ciprofloxacine	Entérobactéries et Staphylocoques	
	Lévofloxacine,Moxifloxacine Sparfloxacine,gatifloxacine	Staphylocoques,Streptocoques, Pneumocoques, bacilles à Gram+(sauf Bacillus)	
Rifamycines (5,8)	Rifamycine Rifamycine SV	-Mycobactéries -Bactéries à Gram+ à développement cellulaire. divers bacilles à Gram - dont Brucella.	Inhibition de la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) par inhibition de l'ARN polymérase.
Nitrofuranes	Infections urinaires: Nitrofurantoine Hydroxyméthylnitrofurantoine Infections intestiales: Furazolidone ,Nifuroxazide	Bacilles à Gram - . Inactifs sur Pseudomonas, Acinetobacter et autres Gram –.	Agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases)
Non classé	Novobiocine	Staphylocoque, cocci à Gram-, Haemophilus et Pasteurelles.	Inhibe la réplication de l'ADN

Inhibiteurs de la synthèse des folates :

Tableau 9 : Sulfamides, Trimethoprime et association (1,6)

Famille	Antibiotiques (DCI)	Spectre d'activité	Mode d'action
Sulfamides	Sulfapyridine,Sulfafurazole Sulfaméthoxydiazine Sulfaméthoxypyridazine Sulfaméthoxazole Sulfaméthizole Sulfaguanidine	Bactéries à Gram - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS)
2-4 diaminoptéridine	Trimethoprime	Il est utilisé en association avec les sulfamides (voir Sulfamides+ Trimethoprime	Inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydrofolate réductase
Sulfamides+ Trimethoprime	Sulfaméthoxazole+Trimethoprime (Cotrimoxazole)	Bactéries à Gram+ et - mais il existe beaucoup de résistances vis à vis de ces antibiotiques.	Agit sur les deux enzymes précédents

II. Résistance des bactéries aux antibiotiques :

II.1 Définitions :

La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un microorganisme (bactérie) de résister aux effets des antibiotiques. Un micro-organisme est considéré «résistant» lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [42].

En effet, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo à la suite d'un traitement [42].

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays. La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal accélère le processus entraînant une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité

II.2 Type de résistance

II.2.1 Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal

(D'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes).

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques, leur patrimoine génétique les rend insensibles à certaines familles d'antibiotiques et elles transmettent ces résistances à leur descendance. On parle de **résistance "naturelle".**

II.2.2 Résistance acquise

A côté de la résistance naturelle existe aussi des résistances acquises ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes [44].

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme [42].

II.2.3 Support génétiques de la résistance

Les entérobactéries sont particulièrement efficaces pour échanger de l'information génétique et la résistance aux antibiotiques de ces espèces est souvent due à l'acquisition de gènes étrangers.

Ces gènes ont été capturés à partir du chromosome d'espèces différentes. Ces mobilisations impliquent deux types différents d'éléments génétiques mobiles. Ceux qui sont capables de transférer ou de capter des gènes entre les molécules d'ADN tels d'insertion, les transposons, ou les cassettes des intégrons, et ceux qui permettent de transfert d'ADN entre cellules, tels que les plasmides conjugatifs et mobilisables ou les éléments intégratifs conjugatifs 45

II.2.3.1 Mutation chromosomique

Elle est la moins fréquente (10-20 %). C'est l'apparition d'une mutation, c'est-à-dire d'un nouveau caractère génétique par suite d'une modification d'un gène porté par le chromosome bactérien. Elle s'effectue de façon spontanée. Les mutations sont stables et héréditaires (Le Minor et Véron, 1989 ; Rouveix, 1990 ; Béraud, 2001 ; Regnault, 2002).

II.2.3.2 La résistance par acquisition des gènes exogènes

II.2.3.2.1 Plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN indépendantes du chromosome et capables d'autoréplication. Un plasmide peut porter plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques conférant ainsi en bloc une multirésistance (Ploy et al., 2005).

II.2.3.2.2 Les transposons

Les transposons sont des séquences d'ADN capables de promouvoir leur propre transfert d'un réplicon (chromosome ou plasmide) à un autre. Les transposons peuvent s'intégrer au chromosome de la bactérie. Ces éléments mobiles peuvent servir de véhicule aux gènes de résistance et permettre leur dissémination (Ploy et al., 2005).

II.2.3.2.3 Intégrons

Les intégrons sont de nouveaux éléments génétiques contenant un ou plusieurs gènes de résistance sous forme de cassettes. Les cassettes sont des unités mobiles qui peuvent être facilement intégrées dans un intégrons par un mécanisme de recombinaison spécifique de site. Les intégrons ont surtout été étudiés chez les bactéries à Gram négatif mais ont aussi été mis en évidence chez des bactéries à Gram positif. Les intégrons jouent donc probablement un rôle important dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du monde bactérien (Ploy et al., 2005).

Résistance de K .pneumoniae aux antibiotiques

1. Bêta-lactamines et K. pneumoniae

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections causées par les Klebsiella 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).

1.1 Mécanismes de résistance

La résistance naturelle ou acquise aux β-lactamines est caractérisée par au moins quatre mécanismes qui peuvent par ailleurs être combinés : l'imperméabilité de la membrane externe, l'expression d'une pompe d'efflux actif, la modification d'affinité de la cible (PLP) et enfin l'inactivation enzymatique par les β-lactamases, constituant le mécanisme principal de la résistance naturelle et acquise des bacilles à Gram négatif aux β-lactamines (Arlet et Philippon, 2003).

Les β-lactamases détruisent les β -lactamines par ouverture du cycle b-lactame (par hydrolyse de la liaison amide au niveau de leur noyau b-lactame). Chaque β -lactamases a des caractéristiques physico-chimiques et enzymatiques propres (poids moléculaire, Phi, substrats préférentiels …) (Newman, 1990).

Résistance enzymatique

1.1.1 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 urédopénicillines 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).

1.1.2 Céphalosporinase

Les gènes codent pour ces enzymes sont naturellement présents chez beaucoup d'entérobactéries (notamment les K. pneumoniae). Ces gènes s'expriment qu'en présence d'inducteurs qui sont presque toujours des β -lactamines (Imipénème et céfoxitine sont les plus forts inducteurs).

Ces enzymes peuvent être produites à bas niveau par les souches sauvages (céphalosporinase de bas niveau ou réprimée). Une mutation sur les gènes régulateurs aboutit à une hyperproduction de ces enzymes (céphalosporinases de haut niveau ou déprimée) (Fauchère et Avril, 2002).

1.1.3 Carbapénamases

Les carbapénèmes sont de plus en plus utilisés en milieux hospitalier car ce sont souvent les médicaments de dernier recours pour traiter les infections graves causées par les K.pneumoniae BLSE (Bonnet, 2004). Au cours de ce traitement, le taux élevé de K.pneumoniae BLSE présente un risque d'émergence de nouvelles carbapénémases.

Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes était liée à l'association de la production de Case ou de BLSE avec une diminution de perméabilité. S'y est ajouté récemment l'apparition de nouvelles enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes.

1.1.4 β-lactamase à spectre élargi (BLSE)

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).

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).

Résistance aux céfotaxime Klebsiella pneumoniae est une souche clinique hautement résistante au céfotaxime par production d'enzyme β-lactamase de type CTX-M (Ben Achour et al., 2008).

Les premières souches de Klebsiella pneumoniae résistantes aux céphalosporines de troisième génération ont été isolées en Allemagne en 1983(Grall, 2011).

Résistance non enzymatique

1.1.5 Imperméabilité

La membrane externe de K. pneumoniae est formée entre autre de lipopolysaccharide (LPS) dont la structure est hydrophile grâce à ses charges électriques de surface et très compacte en profondeur grâce à ses acides gras insaturés. Cette organisation explique une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicillines G, V et M, macrolides, rifampicine, acide fusidique et glycopeptides). Les porines permettent des échanges par diffusion passive de nutriments et d'autres substances entre le périplasme et le milieu extérieur. Les β- lactamines hydrophiles peuvent également traverser la membrane externe en empruntant les porines OmpK36, OmpD et Omp36 chez K. pneumoniae (49). Cependant, des résistances acquises par diminution de la perméabilité de paroi ont été rapportées chez cette espèce suite à une altération quantitative ou qualitative des porines. Ce mécanisme de résistance s'exprime généralement à bas niveau, peut toucher de multiples familles d'antibiotiques et est souvent associé à d'autres mécanismes de résistance : efflux et/ou production de β-lactamase. Cavallo et al., 2004).

1.1.6 Excrétion par des systèmes d'efflux

Les systèmes d'efflux sont constitués chez K. pneumoniae de trois protéines (Nikaido, 1994) :

- Une, insérée dans la membrane cytoplasmique jouant le rôle de pompe,

- Une seconde, insérée dans la membrane externe assurant le passage au travers de la membrane externe,

- Une troisième, périplasmique, qui formerait un lien entre la pompe et la protéine de membrane externe.

Ces systèmes sont en fait des pompes métaboliques assurant l'expulsion active des produits du métabolisme ou de toxiques, comme les antibiotiques, en utilisant une force protomotrice. La résistance par efflux est souvent couplée à une diminution de la perméabilité .L'association de ces deux mécanismes peut entraîner une résistance à haut niveau et simultanée vis-à-vis d'antibiotiques structuralement non reliés, constituant ainsi de véritables systèmes de multirésistance. (Roy, 1997).

1.1.7 Modification de PLP

Plusieurs facteurs peuvent concourir à la résistance par modification de la cible : perte d'affinité des PLP pour les β-lactamines par mutation, acquisition de gènes ou fragments de gènes codant pour des PLP d'affinité diminuée ou hyperproduction de PLP normales. Ce type de mécanisme de résistance reste très rare chez K. pneumoniae (Nikaido, 1994).

1.2 Phénotypes de résistance

Pour chaque espèce, on distingue un phénotype sauvage de résistance aux β-lactamines ou « phénotype sensible » et des phénotypes de résistance acquise ou « phénotypes résistants. La connaissance des phénotypes de résistance permet :

- d'établir la liste des β-lactamines à étudier en routine,

- de contrôler la cohérence entre l'identification et le phénotype de résistance,

- de pallier les imperfections des tests de sensibilité in vitro par l'application de règles de lecture interprétative,

- de guider le choix thérapeutique.

Les phénotypes de résistance aux β-lactamines de K. pneumoniae sont illustrés dans le tableau 2.

Tableau 10 : Phénotypes de résistance de K. pneumoniae aux bêta-lactamines (49)

Antibiotiques	Phénotypes de résistance				
	Sauvage	PHN	PRI	BLSE	CHN
Aminopénicillines	R	R	R	R	R
Aminopénicillines+ Acide clavulanique	S	S/I/R	R	S/I/R	R
Carboxypénicillines	R	R	R	R	R (I)
Carboxypénicillines+Acide clavulanique	S	S/I (R)	R	S/I/R	R (I)
Uréidopénicillines	(S→I)	I/R	I/R	R	R (I)
Uréidopénicillines+ tazobactam	S	S/I	S I/I (R)	S/I (R)	R/I (S→I)
Céphalosporines de première génération	S	S/I/R	S	R	R
Céphalosporines de deuxième génération	S	S (I)	S	R	R/I (S→I)
Céphamycine	S	S	S	S	R/I
Céphalosporines detroisième génération	S	S	S	R/I/(S →I)	R/I (S→I)
Céphalosporines de quatrième génération	S	S	S	R/I/(S I)	S
Carbapénèmes	S	S	S	S	S

2. Aminosides et Klebsiella pneumoniae

Les aminosides ont un large spectre antibactérien qui comprend les bactéries à Gram négatif et positif. Le traitement des infections nosocomiales graves à bacilles à Gram négatif nécessite leur utilisation le plus souvent en association avec une β-lactamine ou une fluoroquinolone (Wachino et Arakawa., 2012).

2.1 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 (Archambaud et Clave, 2008) :

2.1.1 La modification enzymatique des antibiotiques

Lorsqu'un aminoside est modifié par des enzymes bactériennes sa fixation sur 1' ARN 16S peut être affectée et se traduire par la perte de son activité. Les enzymes modificatrices des aminosides sont le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram négatif et positif. Elles ont été regroupées en fonction de la réaction qu'elles catalysent :

Phosphorylation d'un groupement hydroxyle [O- phosphotransférase] (APH aminoside phosphotransférase).

Nucléotidylation d'un groupement hydroxyle [O-nucléotidyltransfé- rase] (ANT aminoside nucléotydiltransférase)

Acétylation d'un groupement aminé [N- acétyltransférase] (AAC aminoside acétyltransférase) (Ramirez et Tolmasky., 2010).

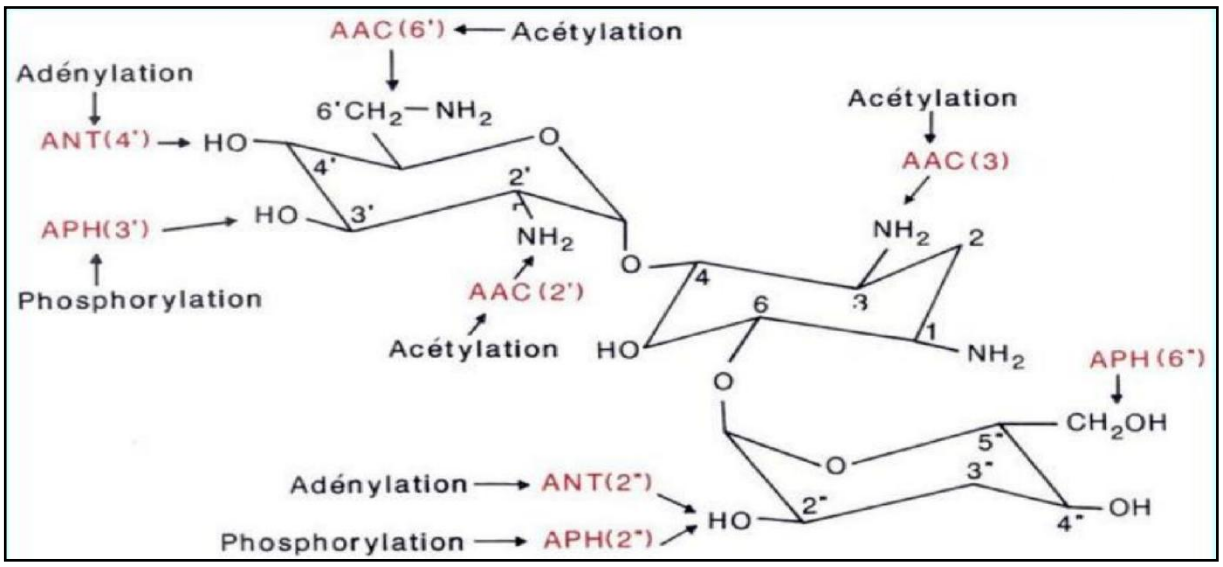


Figure 3 : Les enzymes modificatrices des aminosides (49).

2.1.2 Altération de la cible

Le mode d'action des aminosides laisse présager la mutation de l'ARN 16S comme moyen de résistance. Trois activités de méthylation de l'ARN 16S modifient le site A aux positions G1405 (N7), A1408 et C1407 (N5).

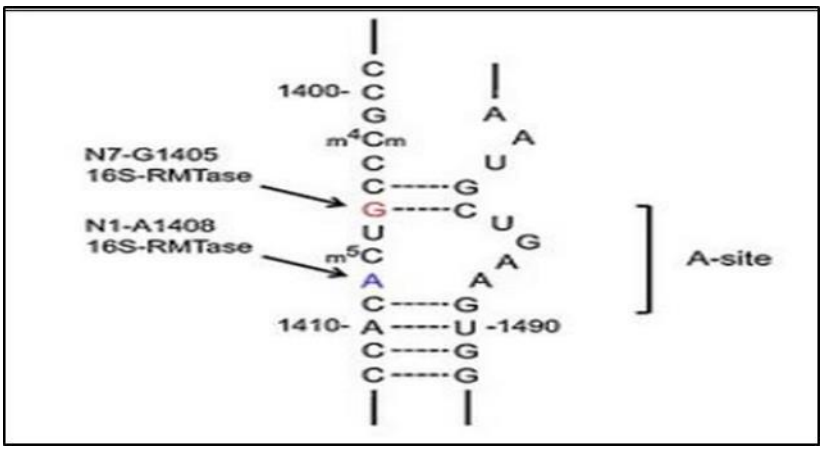


Figure 04 : Site-A : la région qui porte les ARNr16S méthyltransphérase (Wachino et al., 2012).

2.1.3 Piégeage de l'antibiotique

Une enzyme modificatrice peut parfois neutraliser l'action d'un aminoside par une liaison affine sans pour autant modifier sa structure. Le piégeage de l'antibiotique a été proposé comme mécanisme responsable du phénotype de résistance à la kanamycine et à la tobramycine alors que la gentamicine et la nétilmicine restent actives. Lorsque la bactérie produit une grande quantité de la phosphotransférase qui reconnaît la tobramycine sans la modifier celle-ci peut être piégée dans un complexe enzyme-substrat fonctionnellement inactif (Menard et al., 1993).

2.1.4 Imperméabilité ou exportation de l'antibiotique

L'accès de l'aminoside à sa cible met enjeu différentes étapes. Compte tenu de leur caractère hydrophile les aminosides pénètrent la membrane externe des bactéries à Gram négatif par les porines (Hancock et al., 1991).

Le passage par la voie lipophile est associé à leur caractéristique polycationique par substitution avec le calcium ou le magnésium de la membrane externe.

La deuxième étape consiste en la traversée de la membrane cytoplasmique hydrophobe et requiert l'énergie de la force proton motrice produite par la chaîne respiratoire (Davis, 1987).

2.2 Phénotypes de résistance aux aminosides

Tableau 11 : montre les phénotypes de résistance des entérobactéries aux aminosides selon Jehl et al, 2003

Phénotype	Enzymes	Gent ami-cine	Tobrami -cine	Netilmi -cine	Amika -cine	Isépamy -cine	Espèces
G	AAC(3)-I	R	S	S	S	S	E-coli, P-miribilis K-pneumoniae Enterobacter-cloacae
A	APH (3')VI	S	S	S	R	R	E-cloacae
GT	AAC (3)-VI	R	R	S	S	S	E-coli
TA	ANT (4')-II	S	R	S	R	R	Toutes
GTNt	AAC (2')-I AAC (3)-IV	R R	R R	R R	S S	S S	P-stuartii, E-coli
KTG	ANT (2")-I	R	R	S	S	S	Toutes
KTANt	AAC (6')-I	S	R	R	R	S	S-marcesens, E-coli K-pneumoniae, Ecloacae E-aerogenes
KTGNt	AAC(3)-II	R	R	R	S	S	Toutes
KTGANt	Imperméabilité Association enzymes	R R	R R	R R	R R	R R	Toutes Toutes

Quinolones et K. pneumoniae :

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 al., 1962).

Résistance de K. pneumoniae aux Quinolones

La résistance des bactéries, notament Klebsiella pneumoniae, aux fluoroquinolones est devenue préoccupante tant en milieu hospitalier qu'en médecine communautaire.

Deux principaux mécanismes de résistance aux quinolones chez K. pneumoniae s'exercent séparément ou en combinaison et confèrent des niveaux de résistance variables. La résistance plasmidique est due à la protection de l'ADN gyrase de la fixation des quinolones. Cette résistance est décrite pour la première fois en 1998 aux USA chez une souche de K. pneumoniae hébergeant un plasmide portant le gène qnrA qui code pour une protéine Qnr A (Jacoby et al., 2003).

La résistance aux quinolones est principalement chromosomique, généralement due à :

Une diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible.

Une modification de l'ADN gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles.

La résistance des entérobactéries aux quinolones est liée non seulement à des mécanismes de résistance de support chromosomique transmissible verticalement mais aussi à des gènes de support plasmidique transférable horizontalement.

Il n'existe pas de critères phénotypiques sur un antibiogramme permettant de distinguer les mécanismes de résistance chromosomiques et plasmidiques aux quinolones. La détection de ces mécanismes repose sur des techniques de Biologie Moléculaire.

Phénotypes de résistance aux quinolones

Le tableau 5 montre les phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones selon Jehl et al, 2003.

Tableau 12 : Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones (108)

Phénotype	Acide nalidixique	Norfloxacine	Péfloxacine	Ofloxacine	Ciprofloxacine
I	S	S	S	S	S
II	R	S	S	S	S
III	R	I/R	I/R	S	S
IV	R	R	R	R	R
Rare efflux (E.coli)	S	R	S	S	S

EPIDIMIOLOGIE

Les espèces du genre Klebsiella sont présentes dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales. Elles sont ubiquistes Bien que ces agents pathogènes soient souvent en cause dans les cas de pneumonie et de bactériémie d'origine communautaire, ils causent principalement des infections nosocomiales (contractées à l'hôpital; 56 % de toutes les infections à Klebsiella). On considère que les espèces du genre Klebsiella sont endémiques dans les services de néonatologie, et les éclosions nosocomiales, en particulier dans ce type de services, sont fréquentes. Les hommes adultes sont plus vulnérables à l'infection par Klebsiella que les femmes; toutefois, les espèces de ce genre affichent des taux de colonisation élevés chez les nouveau-nés, où ils peuvent survivre quelques mois, comparativement à quelques jours ou semaines chez l'adulte.

Les taux d'infection et de portage augmentent avec l'utilisation d'agents antimicrobiens ce qui conduit en général à une résistance aux antibiotiques

1. Europe

La résistance aux antimicrobiens (RAM) reste un problème majeur de santé publique dans la Région européenne de l'OMS, les estimations de l'Union européenne/Espace économique européen (UE/EEE) montrant à elles seules que chaque année plus de 670 000 infections sont dues à des bactéries résistantes aux antibiotiques et environ 33 000 personnes meurent des conséquences directes.

pays	Antimicrobial group/agent	2016		2017		2018		2019		2020	
		n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
Russie	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	123	91.9	127	90.6	170	83.5	389	81.0	524	89.7
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	123	12.2	127	21.3	170	30.6	415	47.0	542	64.8
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	123	88.6	125	80.0	170	87.1	407	82.8	535	89.2
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistancec	123	89.4	127	81.1	170	83.5	295	61.7	473	75.5
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosidesc	123	85.4	125	76.0	170	75.3	283	57.2	449	75.5
Italie	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	2 246	55.8	2 546	54.6	5 832	53.6	7 699	57.6	8 400	54.3
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	2 303	33.8	2 633	29.5	5 660	26.8	7 325	28.5	8 293	29.5
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	2 248	56.0	2 562	55.7	5 752	52.7	7 692	54.7	8 486	52.4
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistancec	2300	36.1	2571	34.5	5693	27.0	7682	32.6	8084	31.6
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosidesc	2174	32.7	2352	31.6	5587	24.8	7650	30.3	7 842	29.5
Georgie	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	33	100	57	91.2	81	87.7	159	74.8	205	79.0
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	33	9.1	57	47.4	81	28.4	162	30.9	205	62.0
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	29	34.5a	56	58.9	81	55.6	162	45.7	204	49.5
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistancec	33	69.7	52	65.4	74	48.6	155	40.6	201	54.2
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosidesc	29	31.0a	50	40.0	74	35.1	152	23.0	200	29.0

SUISSE	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	921	7.2	961	7.0	1034	8.6	1183	7.6	1231	6.9
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	926	0.8	959	0.3	1033	1.0	1179	0.4	1227	0.3
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	920	5.7	961	8.0	1 033	10.9	1 183	9.0	1 236	6.8
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistancec	911	4.5	961	4.7	1 033	5.5	1 169	4.2	1 206	3.5
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosidesc	906	2.6	959	2.5	1 030	4.5	1 169	3.2	1 205	1.7
Belgique	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/ceftazidime) resistance	669	22.9	803	19.3	935	21.4	759	19.5	912	19.7
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	669	2.4	791	1.1	935	1.4	757	1.1	881	1.1
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	669	23.6	803	23.7	932	22.6	757	19.8	911	22.8
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistancec	637	13.8	633	12.5	747	12.4	755	11.4	910	13.1
	Combined resistance to third-generation cephalosporins,	637	9.3	633	8.5	742	9.8	755	8.7	909	10.3

K. pneumoniae est une cause fréquente d'infections du sang et des voies urinaires et respiratoires et se transmet facilement entre patients, entraînant des épidémies nosocomiales. La résistance aux céphalosporines de troisième génération chez K. pneumoniae est devenue assez Fig. 4

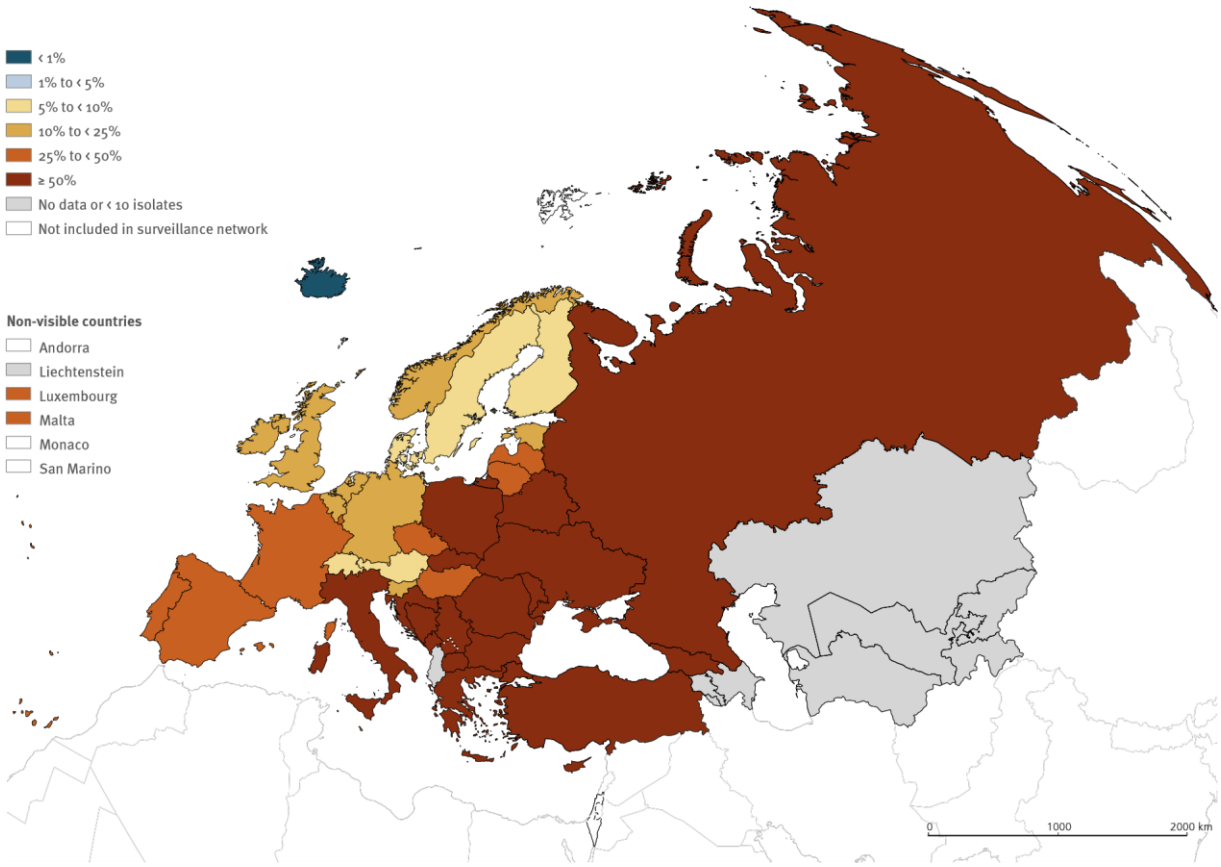


Figure 5 : K. pneumoniae : pourcentage d'isolats invasifs résistants aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime/ceftriaxone/ceftazidime), par pays/zone, Région européenne de l'OMS, 2020

La résistance aux carbapénèmes a été plus fréquemment rapportée chez K. pneumoniae. En 2020, les pourcentages étaient généralement faibles dans les parties nord et ouest de la Région européenne de l'OMS ; 16 (39 %) des 41 pays/zones ont signalé des pourcentages de RAM inférieurs à 1 % (Fig. 5). (30 %) pays ont signalé des pourcentages égaux ou supérieurs à 25 %, dont six (15 % de 41 pays/zones) ont signalé des pourcentages de résistance aux antimicrobiens égaux ou supérieurs à 50 % (Bélarus, Géorgie, Grèce, République de Moldova, République de Russie Fédération et Ukraine) (Fig. 5).

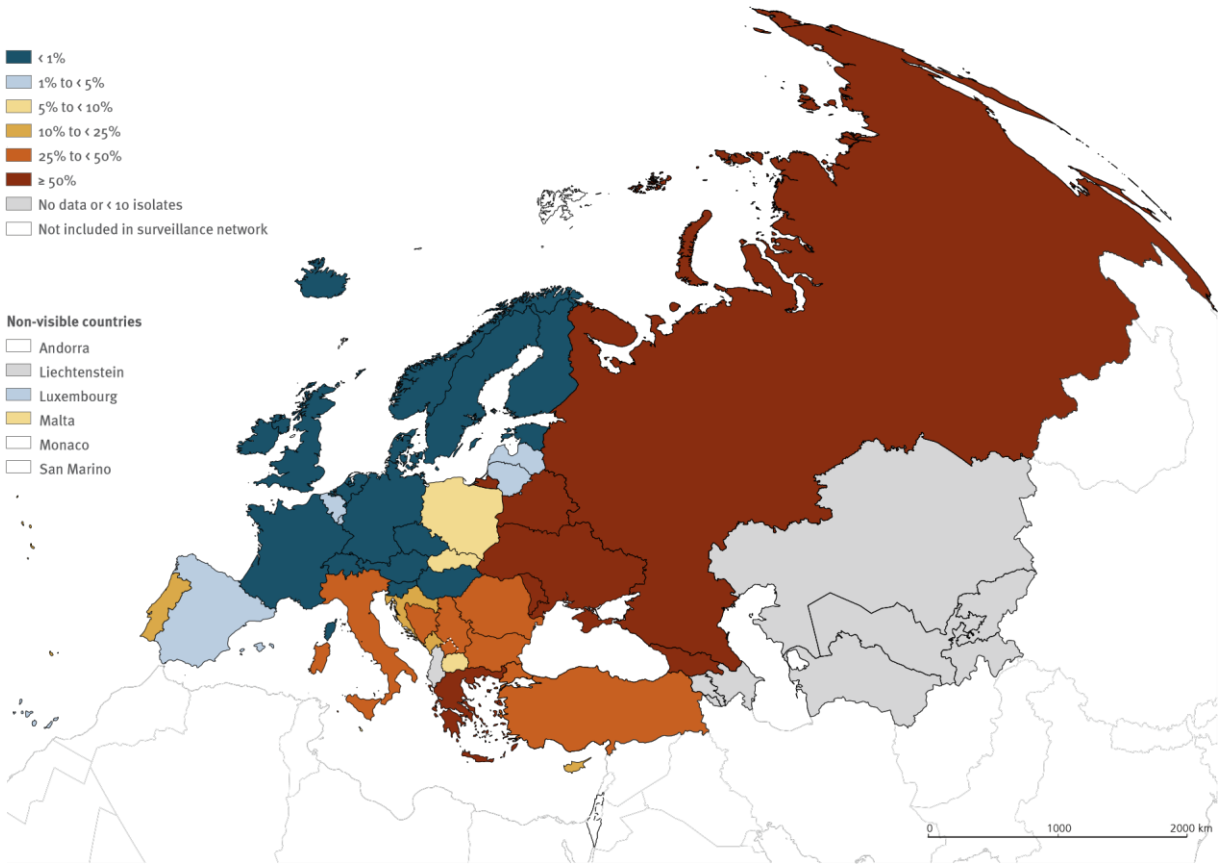


Figure 6 : K. pneumoniae : pourcentage d'isolats invasifs résistants aux carbapénèmes (imipénème/méropénème), par pays/

Zone géographique, Région européenne de l'OMS, 2020

2. AFRICA

2.1 MAROC

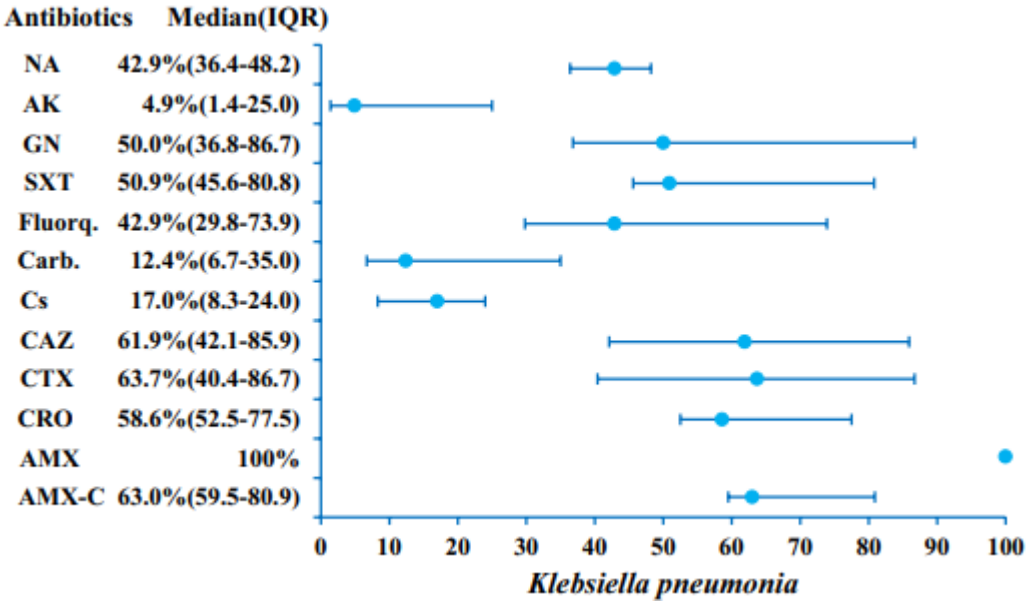


Figure7 : Profil AMR de la pneumonie à K. sous forme de résistance médiane avec intervalle interquartile. AK Amikacine, AMX-C Amoxicilline-acide clavulanique, AMX amoxicilline, Carb Carbapénèmes, CRO Ceftriaxone, CTX Céfotaxime, CAZ Ceftazidime, CFX Céfoxitine, Cs Colistine, Fluorq Fluoroquinolones, GNGentamicine, NA Acide nalidixique, SXT Triméthoprime-sulfaméthoxazole Chakib Nejjari1 et al 2022

Les données sur la résistance aux antimicrobiens sur la pneumonie à K. sont rapportées dans 16 études. Les résistances médianes sont calculées à 63,0 %

(n = 15, IQR 59,5–80,9), 100,0 % (n = 7), 42,9 % (n = 15,

IQR 29,8–73,9), 50,9 % (n=12, IQR 45,6–80,8), 50,0 %

(n=15, IQR 36,8–86,7), 4,9 % (n=14, IQR 1,4–25,0),

42,9 % (n=5, IQR 36,4–48,2) pour l'amoxicilline-clavulanique respectivement l'amoxicilline, les fuoroquinolones, le co-trimoxazole, la gentamicine, l'amikacine et l'acide nalidixique (Fig. 3 ; (6.7–35.0). Pour le 3GC, les résistances médianes sont calculées comme

58,6 % (n=6, IQR 52,5–77,5), 63,7 % (n=9, IQR 40,4–

86,7), 61,9 % (n = 10, IQR 42,1–85,9) pour la ceftriaxone, la céfotaxime et la ceftazidime respectivement. La résistance à la colistine est rapportée à 17,0 % (IQR 8,3–24,0) dans quatre études

2.2 Sud d'Afrique

43% et 20 % de K. les isolats de pneumoniae n'étaient pas sensibles aux aminoglycosides, à la gentamicine et à l'amika-cine, respectivement. Quarante et un pour cent et 25 % des isolats n'étaient pas sensibles aux quinolones, à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine, respectivement. La non-sensibilité aux céphalosporines de troisième génération, céfotaxime/ceftriaxone et ceftazidime, était de 55 % à 57 %, tandis que la non-sensibilité à la céphalosporine de quatrième génération, céfépime, était de 56 %. Cinquante-sept pour cent des isolats étaient non sensibles au bêta-lactamine + inhibiteur de bêta-lacta-mase, pipéracilline/tazobactam. Moins de 10 % des isolats étaient non sensibles aux carbapénèmes : imipénème, méropénème et doripénème, mais 15 % étaient non sensibles au toertapénème Olga Perovic et al 2016

Tableau 14 : Profils de sensibilité aux antimicrobiens de klebsiella isolées à partir d'hémocultures signalées par quatre groupes privés en Afrique du Sud, du 1er janvier 2016 au 31 décembre 2016

	Klebsiella pneumoniae complex				
		Non-susceptible		Susceptible	
Antimicrobial agent	Number of isolates tested	*n*	%	*n*	%
Amikacin	2 444	480	19.6	1964	80.4
Amoxicillin-clavulanic acid	2 450	1475	60.2	975	39.8
Ampicillin/amoxicillin	–	–	–	–	–
Cefepime	2 435	1365	56.1	1070	43.9
Cefotaxime/ceftriaxone	2 442	1390	56.9	1052	43.1
Ceftazidime	1 760	971	55.2	789	44.8
Ciprofloxacin	2 068	837	40.5	1231	59.5
Cotrimoxazole	1 853	1064	57.4	789	42.6
Doripenem	2 376	191	8.0	2185	92.0
Ertapenem	2 419	363	15.0	2056	85.0
Gentamicin	2 442	1037	42.5	1405	57.5
Imipenem	2 410	235	9.8	2175	90.2
Levofloxacin	509	127	25.0	382	75.0
Meropenem	2 431	225	9.3	2206	90.7
Piperacillin/ tazobactam	2 443	1393	57.0	1050	43.0

3. ASIE

3.1 Arabie saoudite (Médina 2014-2018)

La résistance aux antibiotiques est un dilemme croissant qui a des implications importantes sur la santé publique mondiale. Peu de données existent pour la prévalence et les tendances de la résistance aux antibiotiques de la pneumonie à Klebsiella en Arabie saoudite

Ce schéma montre que les céphalosporines sont toutes très résistantes comme prévu chez les patients résistants aux carbapénèmes,

Le céfépime ayant la résistance la plus faible à 90,8 % (n = 334). L'amikacine et la gentamicine étaient une meilleure option à 78,5 % (n = 333) et 86,4 % (n = 361), respectivement.

L'association triméthoprime/sulfaméthoxazole a montré un taux de résistance élevé de 89,7 % (n = 350). L'association pipéracilline/tazobactam était à 95,8 % (n-364).

Maintenant, les antibiotiques les plus sensibles étaient les antibiotiques non bêta-lactamines qui sont devenus une option de traitement avec la résistance des bêta-lactamines et des carbapénèmes [19]. La colistine avait un taux de résistance de 53,6 % (n = 89). De plus, la tigécycline était à 61,4 % (n=167).

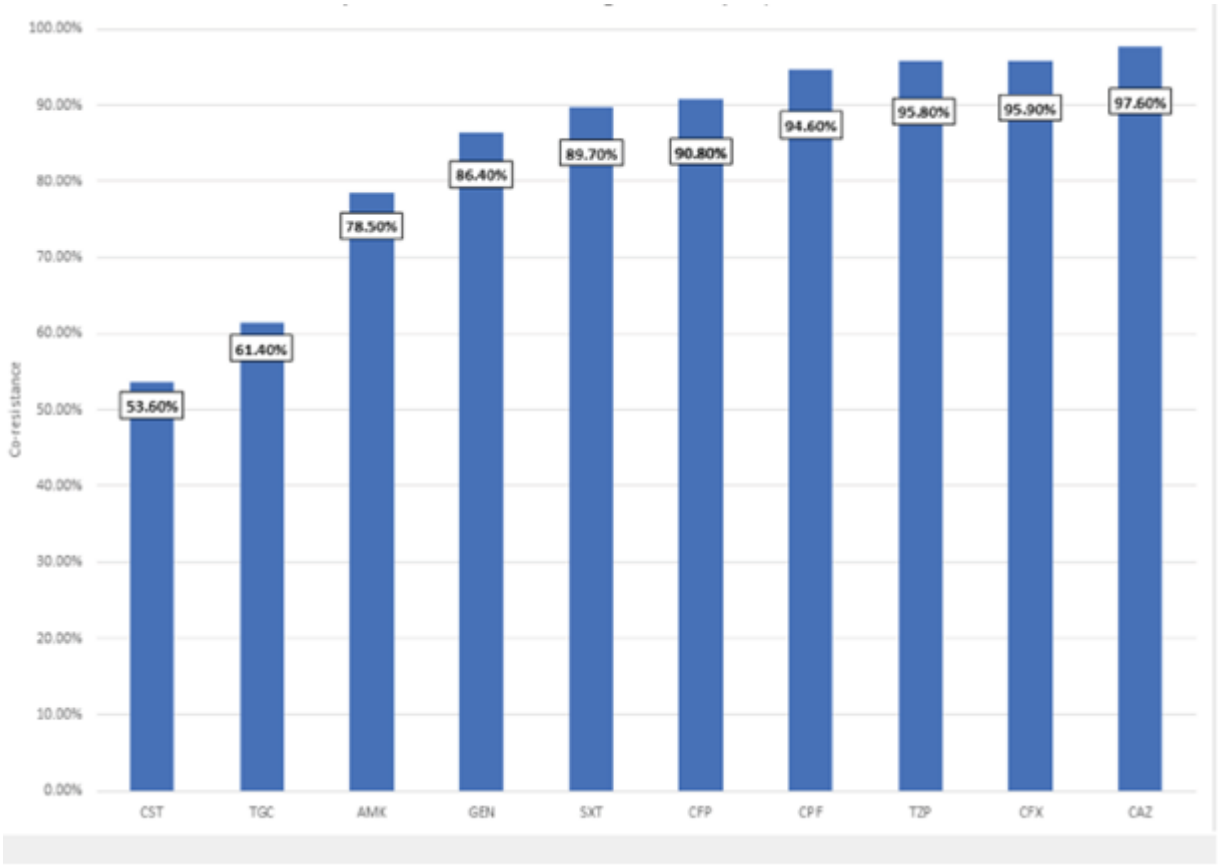


Figure 8 : Prévalence de la résistance croisée aux antimicrobiens parmi isolats de Klebsiella pneumoniae résistants à l'imipénème à King Fahad Hôpital, Médine

CST : colistine, TGC : tigécycline, AMK : amikacine, GEN : gentamycine, triméthoprime/sulfaméthoxazole,

CFP : Céfépime, CPF : Ciprofloxacine, TZP : Pipéracilline/Tazobactam, CFX : Ceftriaxone, CAZ : Ceftazidime

Il a montré une augmentation significative sur les années 2015-2018 avec un coefficient de régression de +0,103.

Bien que l'année 2014 ait eu une taille d'échantillon faible, c'est pourquoi elle a été exclue de l'analyse.

En ce qui concerne les antibiotiques autres que les bêta-lactamines qui sont devenus une option de traitement après l'émergence de K. pneumoniae résistant aux carbapénèmes [19]. Colistin était étonnamment puissant contre K.

Pneumoniae à 40,7 % de résistance. Néanmoins, en raison des faibles échantillons globaux de 258 isolats, dont seulement 21 échantillons ont été effectués dans les années 2014-2016, les résultats n'étaient pas fiables. Bien que le résultat reste un souci en raison de choix thérapeutiques limités, la tigécycline a montré un taux de résistance de 53,3 % (n=220).

Les schémas régionaux de résistance aux antibiotiques aident à établir des lignes directrices sur les choix cliniques dans la prise en charge ces infections. Peu d'études concernant la résistance aux antibiotiques de K. pneumoniae ont été réalisées ces dernières années, notamment en Arabie Saoudite. Une étude d'Al-Tawfik et al. a été publié en 2007, dans lequel ils ont étudié les tendances de la résistance aux antibiotiques chez K. pneumoniae de 1998 à 2003 [17]. Dans l'étude, un taux croissant de résistance contre trois antibiotiques spécifiques a été trouvée. Une constatation importante à noter dans le mentionné étude était que l'imipénem n'avait pratiquement aucune résistance dans les 204 échantillons provenant de patients externes ainsi que 218 des échantillons de K. pneumoniae nosocomiale qui ont été prélevés et testés pour la sensibilité à l'imipénème. Sur le

Au contraire, nous avons constaté dans nos recherches que les échantillons de sensibilité à l'imipénème avaient une résistance significativement plus élevée à 38,4 % (n=436), ce résultat pourrait indiquer l'émergence de souches productrices de carbapénèmases.

Une résistance aux carbapénèmes a été signalée dans le sud de l'Arabie saoudite en 2018, bien qu'il n'y ait pas eu de taux de résistance dans les populations de patients [14].

Avec les carbapénèmes comme l'un des premiers choix de traitement pour K. pneumoniae [20], nous avons analysé les antibiotiques présentant une résistance croisée avec l'imipenème pour évaluer les options de traitement en cas de résistance aux carbapénèmes.

Nous avons trouvé que les antibiotiques les moins résistants étaient la colistine à 53,6% (n=89) et la tigécycline à 61,4 % (n=167).

L'abus d'antibiotiques est un problème crucial en Arabie saoudite et se traduit par une prévalence d'abus allant entre 41 % et 92 % [5]. Une étude réalisée en 2016 dans 26 hôpitaux saoudiens a montré que la troisième génération les céphalosporines est les antibiotiques les plus couramment prescrits [5]. Et en raison du lien entre large spectre l'utilisation des céphalosporines et l'émergence des BLSE et des souches productrices de carbapénèmases [23], qui expliquer la résistance aux antimicrobiens

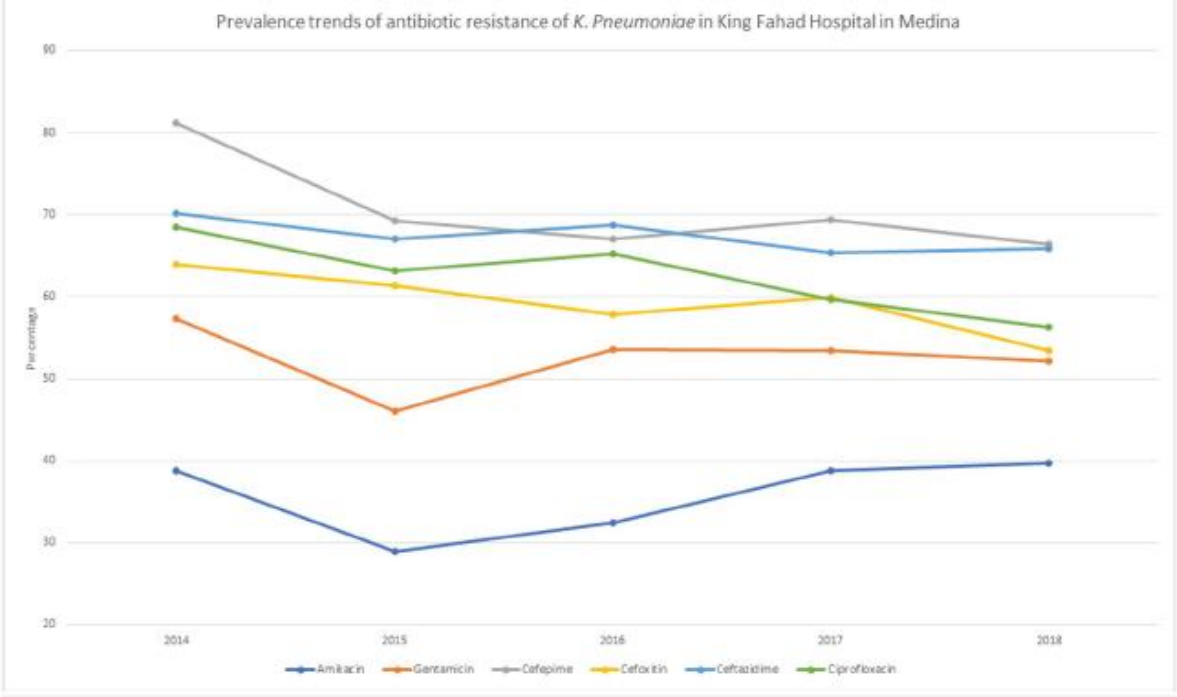


Figure 8 :

Nous pouvons théoriser un lien entre les taux de résistance élevés trouvés dans notre étude et l'abus d'antibiotiques dans la région.

Les limites de notre méthode incluent le manque de tests de souche dans les données, ce qui pourrait différencier BLSE, souches productrices de carbapénémase et MDR K. pneumoniae. Une autre limitation était l'impossibilité de généraliser les résultats à la région de Médine car les autres hôpitaux de la région n'avaient pas non plus équipement ou suffisamment de données pour être inclus dans notre étude. Cependant, KFH reste le plus grand de la région.

De plus, le système utilisé pour identifier la sensibilité aux antibiotiques a été adopté par KFH au début de 2014, par conséquent, les échantillons collectés en 2014 étaient significativement plus petits que les années suivantes et aucun échantillon n'a été enregistré les années précédentes.

La force de notre étude était la taille de l'échantillon ; nous avons analysé 15708 échantillons provenant de 1149 patients. Un nombre de cette ampleur donne à notre étude une crédibilité et une signification statistique. Une autre force de notre recherche est sa pertinence par rapport au climat local actuel. En avril 2018, le ministère de la Santé d'Arabie saoudite a créé un décision de limiter l'utilisation d'antibiotiques sans ordonnance en interdisant aux pharmacies de vendre des antibiotiques sans ordonnance, ce qui était répandu avant le jugement [24]. Étant donné que notre étude comprend des échantillons allant sur les années 2014-2018, il a le potentiel d'être la base d'études futures concernant le changement de résistance aux antibiotiques avant et après la décision. Un domaine pour renforcer davantage notre recherche est d'obtenir informations médicales du patient pour voir s'il y a des comorbidités et en analysant ces informations, nous pouvons ajouter à nos recherches les facteurs pouvant influer sur la morbidité et la mortalité de nos patients.

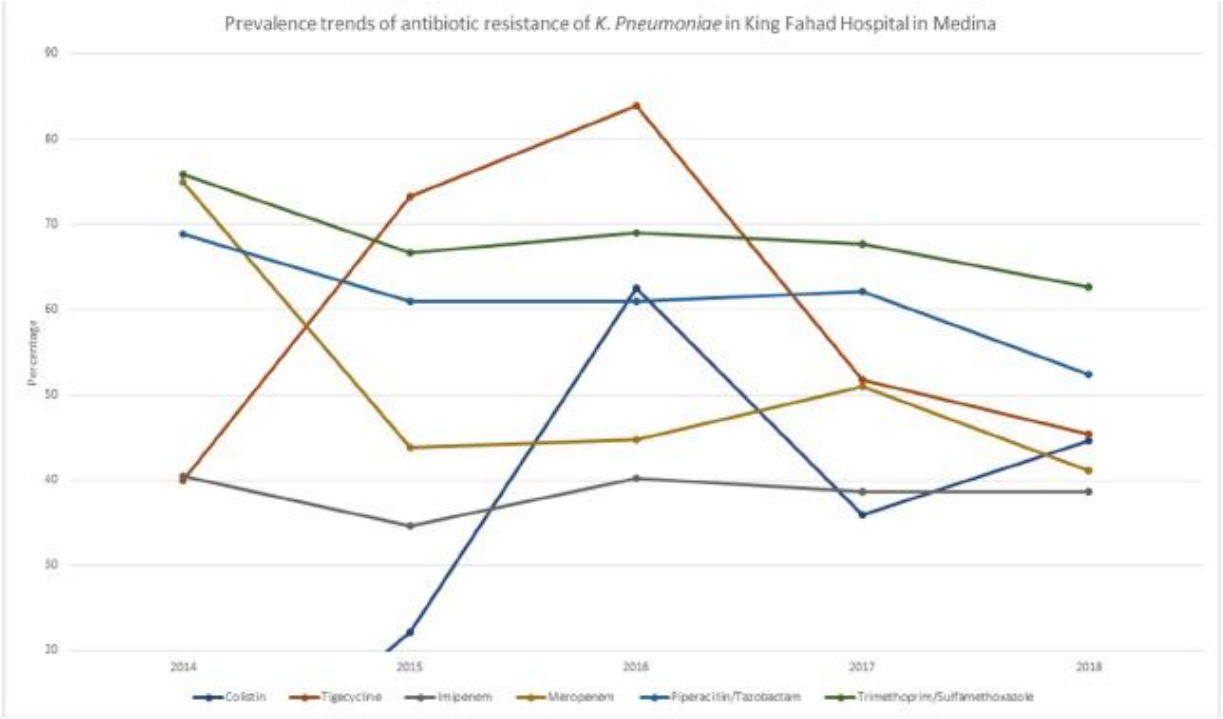


Figure 9 : Tendances de la prévalence de la résistance aux antibiotiques de K. Pneumoniae à l'hôpital King Fahad de Médine

3.3 LA CHINE

Analyse des déterminants de la résistance aux médicaments chez Klebsiella pneumoniae Isolats d'un hôpital de soins tertiaires à Pékin, Chine

Profils de sensibilité aux médicaments des isolats de K. pneumoniae

DST a été effectué pour 223 isolats de K. pneumoniae et le des informations détaillées sur les taux de résistance à tous les médicaments testés sont répertoriées dans le tableau 3. Le taux de résistance le plus élevé a été observé pour l'AMP, atteignant 99,6 % (n = 222), suivie de la résistance à la DF (190, 85,2 %), CTT (153, 68,6 %), SXT (118, 52,9 %), SAM (115, 51,6 %), CFZ (114, 51,1 %), CRO (110, 49,3 %), CAZ (110, 49,3 %), ATM (109, 48,9 %) et TOB (109, 48,9 %). Les deux les carbapénèmes testés dont ETP et IMP présentaient des taux de résistance plus faibles (7,2 % et 5,8 %, respectivement). Notamment, les taux de résistance à la plupart des médicaments étaient beaucoup plus élevés chez les BLSE isolats positifs que les isolats négatifs BLSE

Tableau 15 : Taux de pharmaco-résistance des isolats de K. pneumoniae.

Antimicrobial category	Drugs[a]	Range (μg/mL)	MIC_{50} (μg/mL)	MIC_{90} (μg/mL)	ESBL positive n = 101 (%)	ESBL negative n = 122 (%)	Total n = 223 (%)
Penicillins (99.6%, 222/223)	AMP	≤2–≥32	≥32	≥32	101 (100)	121 (99.2)	222 (99.6)
Antipseudomonal penicillins + beta-lactamase inhibitors (22.4%, 50/223)	TZP	≤4–≥128	≤4	≥128	29 (28.7)	21 (17.2)	50 (22.4)
Penicillins + beta-lactamase inhibitors (51.6%, 115/223)	SAM	≤2–≥32	16	≥32	88 (87.1)	27 (22.1)	115 (51.6)
1st and 2nd generation cephalosporins (51.1%, 114/223)	CFZ	≤4–≥64	32	≥64	96 (95.0)	18 (14.8)	114 (51.1)
3rd and 4th generation cephalosporins (49.3%, 110/223)	CRO	≤1–≥64	≤1	≥64	95 (94.1)	15 (12.3)	110 (49.3)
	CAZ	≤1–≥64	≤1	≥64	95 (94.1)	15 (12.3)	110 (49.3)
	FEP	≤1–≥64	≤1	≥64	96 (95.0)	12 (9.8)	108 (48.4)
Cephamycins (68.6%, 153/223)	CTT	≤4–≥64	≤4	≤4	43 (42.6)	110 (90.2)	153 (68.6)
Carbapenems (7.2%, 16/223)	ETP	≤0.5–≥8	≤0.5	≤0.5	5 (5.0)	11 (9.0)	16 (7.2)
	IMP	≤1–≥16	≤1	≤1	3 (3.0)	10 (8.2)	13 (5.8)
Monobactams (48.9%, 109/223)	ATM	≤1–≥64	≤1	≥64	96 (95.0)	13 (10.7)	109 (48.9)
Fluoroquinolones (40.4%, 90/223)	CIP	≤0.25–≥4	1	≥4	63 (62.4)	27 (22.1)	90 (40.4)
	LVX	≤0.25–≥8	1	≥8	63 (62.4)	27 (22.1)	90 (40.4)
Aminoglycosides (49.3%, 110/223)	GM	≤1–≥16	≤1	≥16	70 (69.3)	22 (18.0)	92 (41.3)
	TOB	≤1–≥16	≤1	≥16	82 (81.2)	27 (22.1)	109 (48.9)
	AMK	≤2–≥64	≤2	16	39 (38.6)	15 (12.3)	54 (24.2)
Folate pathway inhibitors (52.9%, 118/223)	SXT	≤20–≥320	≥320	≥320	90 (89.1)	28 (23.0)	118 (52.9)
Nitrofurantoin (85.2%, 190/223)	FD	≤16–≥512	64	≥512	89 (88.1)	101 (82.8)	190 (85.2)

3.2 INDIA

Une étude rétrospective de l'évolution des tendances de la résistance antimicrobienne de Klebsiella pneumoniae isolé à partir d'échantillons d'urine sur les 3 dernières années (2012-2014)

Klebsiella était le deuxième plus fréquent isolat tout au long des 3 ans (14 %) du total des isolats). L'analyse des résultats par année a indiqué que le pourcentage le plus faible de la résistance s'est manifesté contre l'imipénem entre 11,94 % (2012) et 13,75 % (2014). Au fil des années, la résistance à la ceftriaxone tend à augmenter de 74,95 % (2012) à 81 % (2014). Klebsiella a montré une résistance très élevée 90,78% (2012) et 95,63 % (2012) au co-trimoxazole et à la tétracycline, respectivement avec une tendance croissante à la résistance absolue aux deux groupes au cours de la Période de 3 ans. En moyenne sur les 3 ans, Klebsiella

a montré un nombre élevé de résistances aux fl uoroquinolones (72,71 %) et les aminoglycosides (76,22%). Alors que les Klebsiella multirésistantes varient entre 65 % (2012) et 67 % (2014) Neetu Sharma et al.2016

Tableau 16 : Tendances de la résistance aux antibiotiques de Klebsiella ²pneumoniae isolats pour les années 2012-2014 india

Antimicrobial agents	Resistant		
	2012	2013	2014
	Percentage (*n* = 161)	Percentage (*n* = 200)	Percentage (*n* = 206)
Amoxy+clavulanic acid	73.79	84	81.25
Piperacillin+tazobactam	51.46	67	73.13
Aminoglycosides	76.05	77	75.63
Fluoroquinolones	77.77	71.5	68.88
Ceftriaxone	74.95	78.5	81
Cefoperazone+sulbactam	60.19	56.5	49.38
Imipenem	11.94	13	13.75
Nitrofurantoin	49.03	47	58.13
Co-trimoxazole	90.78	95	100
Tetracyline	95.63	100	99.38
Ceftazidime+tazobactum	79.26	78	78.09

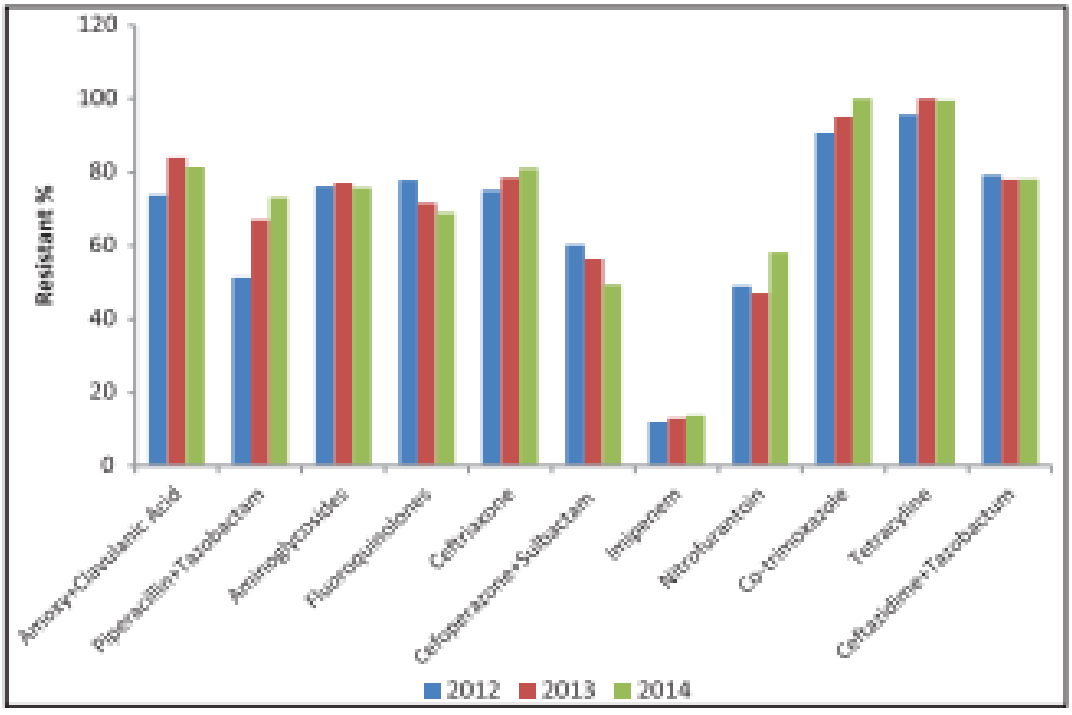


Figure 10 : Tendances de la résistance aux antibiotiques des isolats de Klebsiella pneumoniae dans les échantillons d'urine au cours des 3 dernières années de 2012 à 2014

Résistance aux antimicrobiens des agents pathogènes Klebsiella Pneumoniae en 2019 de la ville de Shaoxing

K. pneumoniae est le plus sensible à l'amikacine, avec un taux de résistance de 4,42%, résistance au carbapénème antibiotiques et tigécycline inférieurs à 10 %, et le taux de résistance moyen à l'inhibiteur de β-lactame-β-lactamase combinaisons allant de 9,95 à 16,92 %. Le taux de résistance aux céphalosporines, à l'aztréonam, à la céfoxitine, (Zhang Y et al.2019) la ciprooxacine, la nitrofurantoïne et le sulfaméthoxazole est de 12,63 à 28,72 %. La nitrofurantoïne (36,18 %) avait le taux le plus élevé taux de résistance aux médicaments à l'hôpital populaire de Shaoxing, et les autres antibiotiques présentaient la résistance aux médicaments la plus élevée taux à l'hôpital affilié de l'Université de Shaoxing. Il existe des différences significatives dans le taux de résistance entre hôpitaux ($p<0,05$), comme le montre le tableau 9. (Hu Fet al 2019)

Tableau 17 : Comparaison du taux de résistance aux antibiotiques (%) de K. pneumoniae dans divers hôpitaux de la ville de Shaoxing

Antibiotics	SPH	2ndH	SUH	TCM	7thH	SMCH	Mean	χ2	*p*
Ampicillin	99.75	83.39	88.51	100.00	79.75	69.55	87.67	174.76	0.00
Cefazolin	30.13	33.91	ND	15.00	29.11	23.18	28.42	14.06	0.01
Ceftazidime	17.36	18.40	32.95	ND	ND	ND	20.45	30.88	0.00
Ceftriaxone	26.67	31.14	47.13	13.25	27.85	17.65	27.65	83.32	0.00
Cefepime	16.80	12.80	31.03	3.61	10.13	1.38	14.44	119.54	0.00
Amoxicillin / Clavulanic acid	18.80	33.33	ND	5.42	13.92	4.15	13.95	51.74	0.00
Piperacillin/Tazobactam	9.68	13.59	22.22	3.61	8.86	0.00	9.95	87.67	0.00
Cefoperazone/sulbactam	13.33	92.68	ND	ND	ND	ND	16.92	175.31	0.00
Aztreonam	22.70	26.99	40.23	8.43	20.25	9.69	22.36	97.07	0.00
Cefoxitin	15.71	16.67	ND	4.82	18.99	6.23	12.63	30.21	0.00
Amikacin	4.26	6.01	9.58	1.20	6.33	0.00	4.42	36.31	0.00
Gentamicin	15.50	15.22	28.74	6.02	8.86	14.88	16.24	46.63	0.00
Ciprofloxacin	24.05	33.56	47.89	15.06	27.85	21.45	28.72	77.27	0.00
Levofloxacin	18.89	17.30	37.16	9.04	18.99	9.69	18.90	83.81	0.00
Macrodantin	36.18	23.18	34.10	31.33	26.58	12.46	27.60	57.37	0.00
Sulfamethoxazole	24.42	30.21	30.27	10.98	25.32	23.53	24.83	25.32	0.00
Tobramycin	9.29	9.34	16.48	5.42	8.86	4.50	9.18	27.11	0.00
Ertapenem	7.76	17.36	23.37	1.23	0.00	0.69	9.42	129.43	0.00
Imipenem	7.02	16.61	21.46	1.83	8.86	0.00	8.97	113.26	0.00
Meropenem	6.83	ND	ND	ND	ND	ND	6.83	-	-
Tigecycline	8.65	16.67	ND	0.64	0.00	1.04	5.76	38.32	0.00
ND: not determined									

CHAPITRE III

MATERIEL ET METHODE

1. PROBLEMATIQUE

Le problème de la résistance aux antibiotiques est devenu un albatros sur le cou des cliniciens, vétérinaires et autres agents de contrôle des infections dans leur quête pour traiter et prévenir infections causées par des micro-organismes on pensait autrefois avoir été éradiquée avec des antimicrobiens. Ces organismes ou superbactéries reviennent dans de nouveaux formes résistantes à presque tous les antimicrobiens cliniquement importants. Malheureusement, le pipeline pharmaceutique n'a tout simplement pas assez de nouveaux médicaments pour maintenir au rythme des infections bactériennes résistantes aux médicaments [1].

Klebsiella pneumoniae est l'un de ces organismes qui ont suscité beaucoup de préoccupations en matière de santé publique. Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie importante considéré comme l'un des pathogènes opportunistes causant un large spectre de maladies et montrant de plus en plus acquisition fréquente de résistance aux antibiotiques ce qui nous a poussé à entamer cette etude qui se porte sur la caractérisation des souches de klebsiella

2. CADRE D'ETUDE

2.1 LIEU DE TRAVAIL

Nous avons réalisé notre travail au niveau des laboratoires d'analyses médicales zitouni (rue d'alger) et El chifa (mesalah) à Médéa

2.2 DURÉE DE L'ÉTUDE

Cette étude a été réalisée au laboratoire DANALYSE medecale - medea. Ce travail a duré du 2 mois (du2 mars au 2 mai 2022).

3. Prélèvement

Les prélèvements ont été réalisé selon la présentation clinique de la maladie et sont réalisés à des fins diagnostiques.et sont accompagnés d'une fiche de renseignement sur laquelle sont mentionnées les cordonnées relatives à chaque malade (Nom, Prénom, âge, sexe, médecin traitant, les signes cliniques ayant motivé le prélèvement et l'existence d'une éventuelle antibiothérapie en précisent la nature et la durée de l'antibiotique).

Les échantillons concernés par notre étude sont des prélèvements des urines, de sang, de pus et de liquide céphalo-rachidien (LCR)

3.1 Types de prélèvements

Les urines (ECBU)

Les urines sont recueillies de la première miction du matin en évitant la contamination de l'urine par les germes de l'environnement et en désinfection locale avec une solution antiseptique.

Les premières gouttes d'urine seront éliminées et les 20 à 50 ml suivants seront recueillis dans un pot stérile.

Chez la femme, le recueil se fait, si possible, en dehors des périodes menstruelles ou d'infection vaginale.

Examen cytobactériologique du liquide Céphalo-rachidien(LCR)

Cet examen est réalisé par la mise en évidence de l'agent pathogène dans le liquide céphalorachidien. Il impose la pratique d'une ponction lombaire (PL)

Il se réalise au niveau du cul-de-sac lombaire entre L4 et L5 ou L3-L4 ou L5-S1. L'espace L4- L5 se repère sous une ligne horizontale rejoignant les deux crêtes iliaques. Le malade est assis, courbé en avant (dos rond) ou couché. Les règles d'asepsie doivent être respectées (désinfection, port de gants). La ponction se fait dans un plan sagittal et médian selon une direction légèrement ascendante (30°) entre les apophyses épineuses. Après avoir franchi la résistance du ligament vertébral postérieur, l'aiguille (sensation d'une seconde résistance). Le liquide est prélevé, puis l'aiguille est retirée d'un coup sec. La ponction lombaire est contre En cas de traitement anticoagulant qui pourrait créer un hématome extradural rachidien et si le taux de plaquettes est anormalement bas, en cas d'instabilité hémodynamique

Examen cytobactériologique des pus

Les prélèvements de pus sont très divers dans leur localisation anatomique. En règle générale, les écouvillons possèdent un mauvais rendement ; ils ne sont pas adaptés à la survie des bactéries sensibles à la dessiccation ainsi que des bactéries anaérobies. Ne permettant qu'un prélèvement superficiel, ils récupèrent facilement la flore de contamination. Si leur utilisation est la seule alternative, ils pourront être humidifiés avant le prélèvement à l'aide de sérum physiologique stérile, et devront pour leur acheminement au laboratoire être immergés dans un milieu de transport.

Les prélèvements les plus performants sont ceux effectués à la seringue, les pièces opératoires et les biopsies. Les lésions sur peau saine ou non suintantes ainsi que les lésions superficielles seront prélevées à l'aide de deux écouvillons stériles. Pour les collections fermées, l'aspiration à la seringue (aiguille de gros calibre) est le meilleur moyen. Pour conserver la viabilité des bactéries anaérobies, chasser l'air de la seringue, enlever l'aiguille et obturer avec un bouchon.

Hémoculture

Les hémocultures doivent être faites au début de la maladie, avant la réponse anticorps et avant tout traitement antibiotique.

Le prélèvement se fait par ponction veineuse en utilisant un flacon anaérobie soit par le flacon aérobie Le recueil du sang à travers un dispositif intravasculaire augmente le risque de contamination. Il est nécessaire d'effectuer une désinfection de l'opercule des flacons D'hémoculture et du point de ponction avec un antiseptique alcoolique.

4. Recueil des donnes

Les donnes sont récupérées a partir des registre et des fichiers de l'antibiogramme de laboratoire de microbiologie ils composent la nature de l'échantillon ainsi que le nom le sexe et l'Age de malade

4.1 Critère d'inclusion

Cette étude concerne l'ensemble de la souche de klebsiella isolat et identifiée à partir des déférents prélèvements clinique

4.2 Critères d'exclusion

Les souches isolées d'un même malade, au niveau du même site anatomique et dont le profil de sensibilité est identique ont été considérées comme doublons et donc éliminées.

5. Examen bactériologique

5.1 Examen macroscopique

Les observations macroscopiques se réalisent à l'œil nu, minutieusement sur chaque échantillon, pour constater certains paramètres, notamment la couleur, l'odeur, la turbidité et la viscosité. Il est à

signaler que ces paramètres varient d'une personne à l'autre en fonction de l'état de santé, du sexe et de son âge

5.2 Examen microscopique

Etat frais

Dans le but d'une étude microscopique de la bactérie en son état vivant et en l'absence de toute fixation ou coloration on emploie la méthode d'observation à l'état frais qui permet d'observer : la morphologie de la bactérie, le mode de groupement et la mobilité. En microbiologie, une préparation à l'état frais consiste à enfermer entre lame et lamelle une suspension pas très dense et non débordée de microorganismes vivants afin de limiter la diffusion des micro-organismes dans l'environnement du laboratoire

Observation au microscope optique :

 Faire la mise au point en faible luminosité à l'objectif x40.

 Attendre 1 minute pour ne pas confondre une mobilité positive et un simple mouvement osmotique

5.3 Mise en culture

Après l'examen microscopique, chaque prélèvement doit être cultivé, selon les exigences des analyses et la nature de l'analyse, sur des milieux de culture appropriés

Les opérations d'ensemencement des milieux gélosés, préparés en tube ou en boite de Pétri, se réalisent directement, en déchargeant en stries condensées l'écouvillon de prélèvement sur toute la surface du milieu de culture gélosé. Les durées et les températures d'incubation sont fixées, selon les protocoles opératoires adoptés au laboratoire des analyses bactériologiques. Comme il s'agit doivent d'entérobactéries, l'incubation se réalise à 35-38°C.

5.4 Isolement et purification

Après une lecture morphologique, les différentes colonies obtenues sont ré-isolées sur le même milieu afin d'obtenir de souches pures

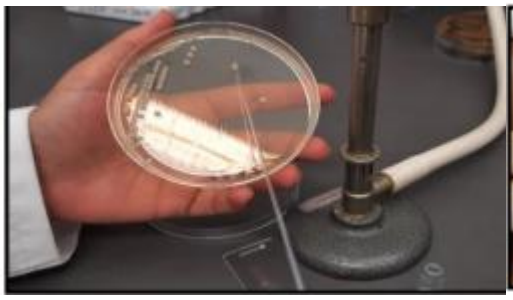


Figure 11 : Prélèvement d'une colonie d'une culture sur gélose.



Figure 12 : Dépôt de lamelle sur lame destinée à partir à l'observation microscopique à l'état frais

6. Identification des germes bactériens

Après obtentions d'isolats bactériens purifiés et bien distingués, les opérations de leur identification portent sur une série de tests préliminaires pour examiner des aspects macroscopiques et microscopiques.

6.1 Examen macroscopique

L'étude de la macromorphologie bactérienne est le premier acte effectué pour identifier l'isolat bactérien purifié. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic.

L'aspect des colonies sur le milieu solide permet d'observer et de noter la couleur, la taille, la forme et la fermentation du lactose ; l'aspect (collant, filamenteux, etc.), l'odeur, la transparence (opaque, translucide), l'allure des contours (régulier, dentelés, etc.), l'aspect de la surface (lisse ou rugueuse, etc.) (Joly et Reynaud, 2003

6.2 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.

Les étapes de coloration de Gram sont détaillées dans L'annexe

6.3 Tests biochimiques et métaboliques :

6.3.1 Oxydase :

Principe :

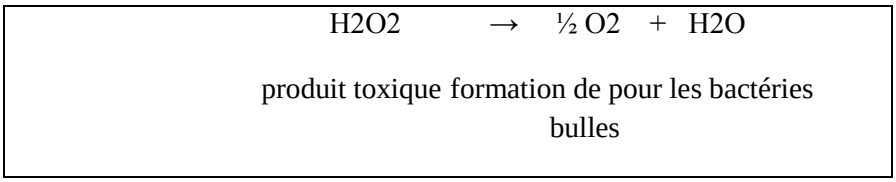
Le test d'Oxydase est un examen rapide, utilisé pour identifier les bactéries Gramnégatifs. Cet examen est utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand c'est réduit) à une couleur violet- foncé (quand c'est oxydé). Les bactéries qui possèdent le cytochrome C sont capables d'éliminer des électrons (oxyde) de cet indicateur redox, cause pour laquelle la couleur change

TECHNIQUE

Avec un écouvillon stérile prendre une à deux colonies de bactérie bien isolées, nous l'avons ajouté une à 2 gouttes de réactif d'oxydase.la lecture est immédiate

6.3.2 Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

Technique

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.

6.4 Identification bacterienne

6.4.1 Culture sur milieu hektoen

Afin d'identifier les germes qui se trouvent dans les différents prélèvements, une goutte de chaque échantillon a été mise en suspension puis ensemencée sur une boîte de pétri renfermant le milieu Hektoen. Les résultats seront observés après 24h d'incubation à 37°C

6.4.2 Culture sur milieu CLED

Le milieu CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) possède les caractéristiques suivantes :

- milieu non sélectif
- présence de lactose
- présence d'un indicateur coloré : le bleu de bromothymol

Ce milieu permet donc d'identifier 2 types de colonies :

Colonies jaunes: bactéries non exigeantes lactose+: Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella ...

Colonies bleu vert : bactéries non exigeantes lactose - : Serratia, Salmonella, Shigella, Proteus, Providencia, Yersinia, Pseudomonas, Staphylococcus, Enterococcus ...

Cette gélose est principalement utilisée pour l'ensemencement des urines.

6.4.3 Milieu CHROMagar Orientation

L'objectif majeur du CHROMagar Orientation est la détection des microorganismes pathogènes des voies urinaires, il permet une identification complète des agents pathogènes. L'identification se fait directement à partir d'urines homogénéisées, en en semonçant par stries une goutte à l'aide de l'anse de platine sur le milieu. Après incubation à 37C° pendant 24h.

6.4.4 Le milieu de Hajna-Kligler :

Le milieu de Hajna-Kligler est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des Entérobactéries.

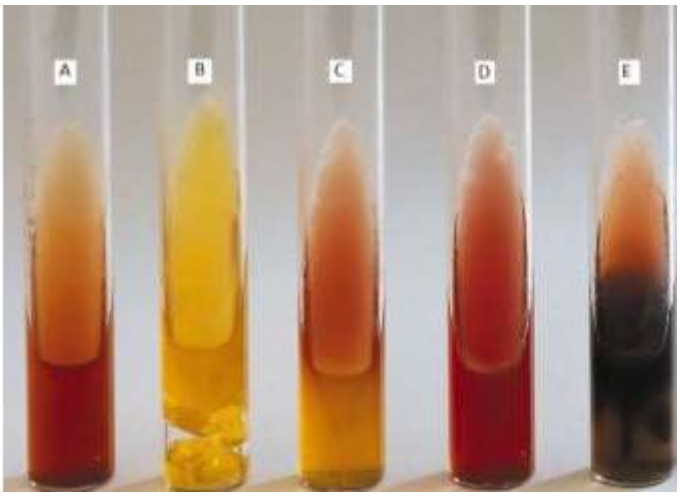


Figure 13 : ASPECT DES COLONIE SUR MILIEU KIA ANNEXE

Le principe

DU MILIEU REPOSE SUR LAPTITUDE DES ENTERO BACTERIE A FERMENTE OU NON LE LACTOSE PETIT JAUNE= colonie lactose+) et le glucose (culot jaune=colonies glucose+) avec ou sans production de gaz ou de sulfure dhydrogene (coloration noir)

6.5 Galerie API 20^{E}

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.

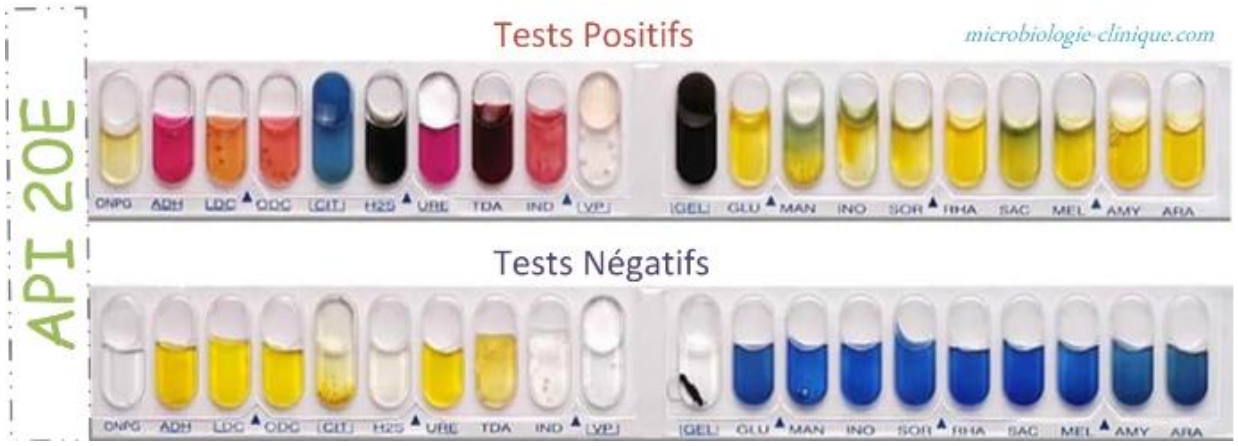


Figure 14 : API 20E positive vs négative

Les étapes de la technique et les tableaux utilisés pour la lecture sont détaillées dans l'annexe

6.6 Antibiogramme

L'antibiogramme est l'examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre chacune des molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne susceptible d'être pathogène, isolée d'un patient. Le résultat contribue à évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance, ce qui signifie que la molécule sera probablement active au sens thérapeutique ou le traitement sera un échec. Le résultat numérique brut est accompagné d'une interprétation ou remplacé par elle: résistante, sensible, intermédiaire, ou (indéterminée) (72).

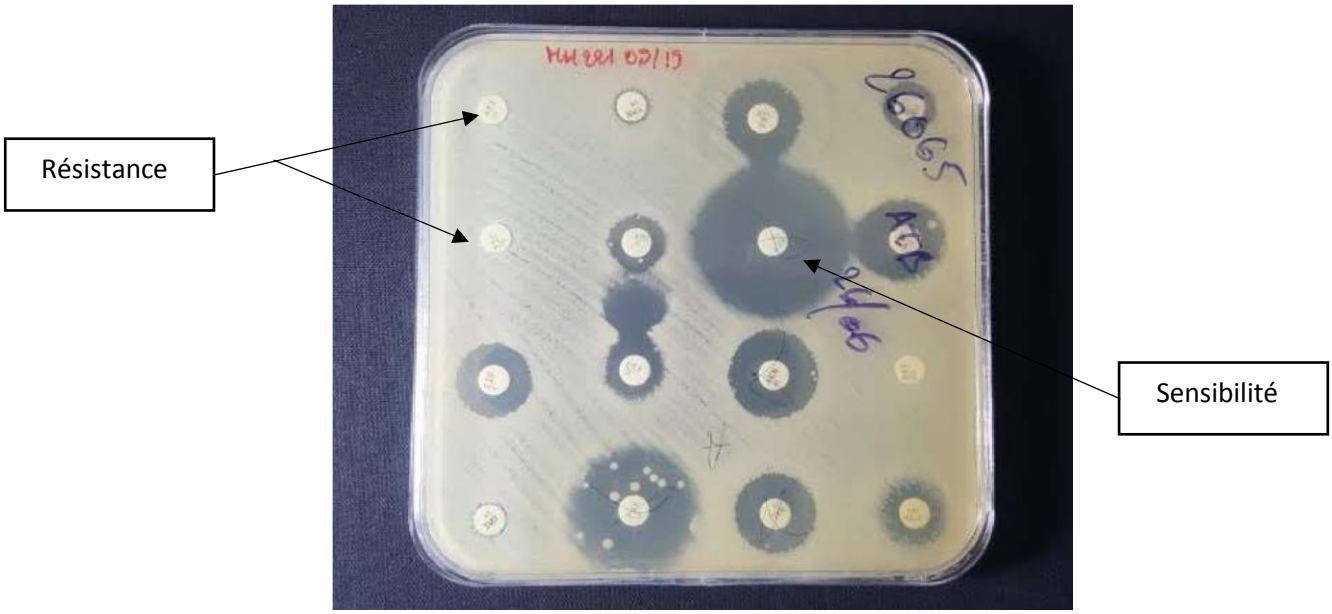
6.6.1 Test de sensibilité aux antibiotiques : Méthodes de diffusion des disques d'antibiotiques

La technique utilisée est la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton, l'antibiogramme est interprété après mesure des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM

Tableau 18 : Les antibiotiques testés

Famille d'antibiotique	Antibiotiques testés	Abréviations	Charges (µg)
Béta-lactamines	Ampicilline	AMP	10
	Amoxicilline	AMX	25
	Amoxicilline / acide clavulanique	AMC	30
	Céfotaxime	CTX	30
	Céfazoline	CZ	30
	Céfalexine	CN	10
	Imipénème	IPM	10
	Ertapénème	ETP	10
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30
	Ciprofloxacine	CIP	5
Aminosides	Amikacine	AK	30
	Gentamicine	GM	15

Sulfamides et associes	Cotrimoxazole	SXT	25
polypeptides	Colistine	CT	10
Fosfomycine	Fosfomycine	FOS	200
Nitrofuranes	Furane	FT	300



6.6.2 VITEK 2 compact

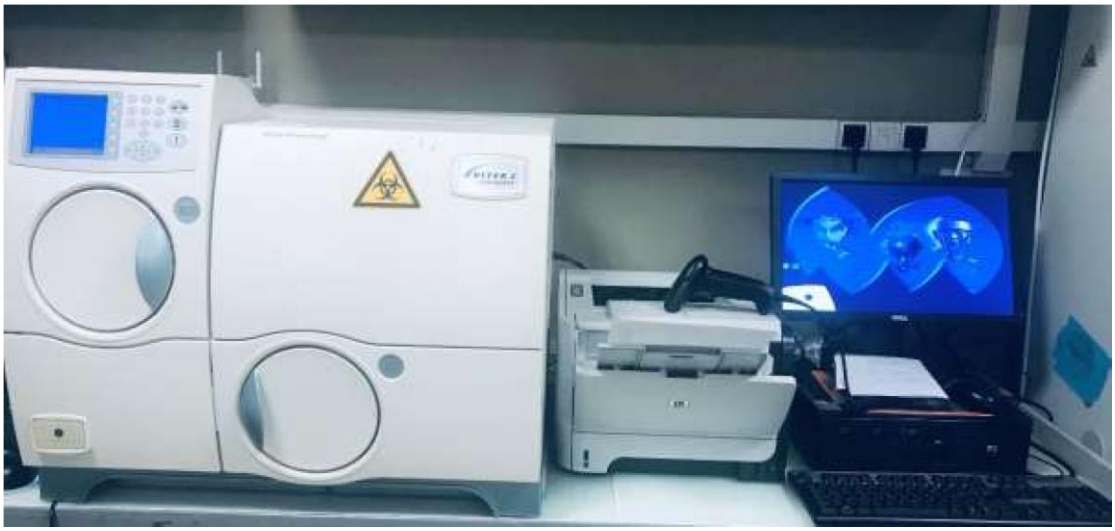


Figure 15 : Automate VITEK 2 Compact (photo prise au LRM le 04/10/2019)

Principe

Entièrement automatisé, l'instrument permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme rapides et précis. Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante (voir Figure 15)

Technique

-Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;

-Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;

-La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antibiogramme) ;

Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

-Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;

-A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;

-Homogénéiser la suspension et bien agiter au vortex ;

-A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration bactérienne à 0,5 McFarland ;

-Poser le tube contenant la suspension bactérienne en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;

-Préparer la solution pour antibiogramme :

o Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé la micropipette calibrée à 145µl (rouge) spécifique au Gram négatif.

o A partir de la suspension bactérienne, pipeter 145µl et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin. On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.

-Placer la carte d'identification GN, et la carte pour l'antibiogramme AST-N 233 Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;

-Cliquer sur Vitek 2

-Mettre Identifiant du LRM

-Cliquer sur gérer la cassette virtuelle

-Créer une cassette virtuelle

-Identification de la cassette 1,2,…

-Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette

-Saisir les données de l'isolat ;

Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)

-Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle

-Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,

-Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;

-Fermer le capot de remplissage ;

-Appuyer sur la touche Lancer remplissage, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;

-Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;

-Lorsque le message retiré s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le capot chargement puis le refermer ;

-On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

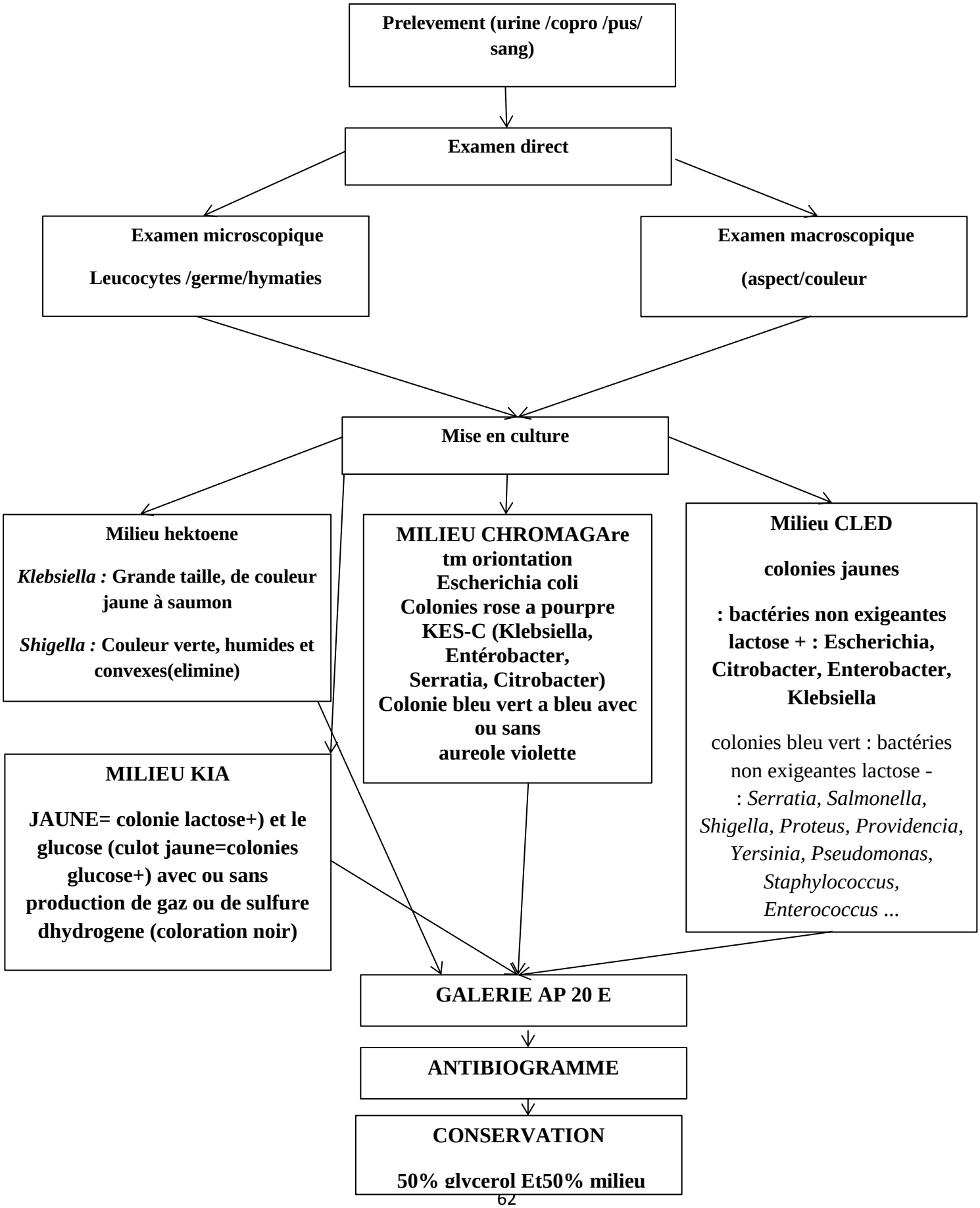
Profil biochimique sur Vitek 2 Compact

Confère (annexe).

Conservation des souches

LES SOUCHE ONT ETE CONSERVE dans un eppendorf CONTENANT 50% glycerol Et50% milieu BHIB

7 Diagnogramme de démarche au laboratoire



1 Analyse des prélèvements

1.1 Examen macroscopique

Différents caractères culturaux ont été observés après 24 heures d'incubation à 37°C sur milieu CLED et sur le milieu Hektoen.ET LE CHROMOGENE ET LE MILIEU KIA



Figure 16 : Aspect des colonies MILIEU CLED

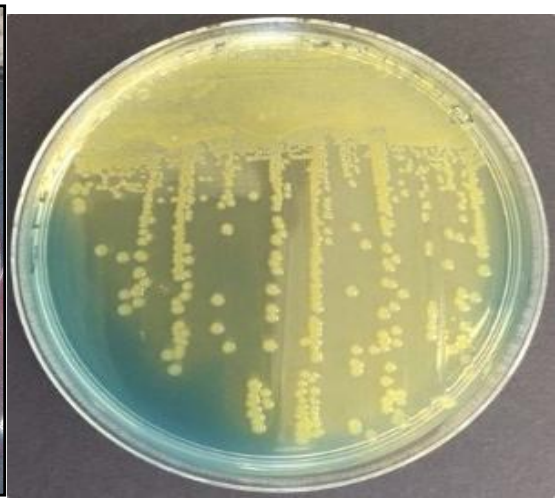


Figure 17 : ASPECT DES COLONIE SUR sur milieu Hektoen (K. pneumoniae).

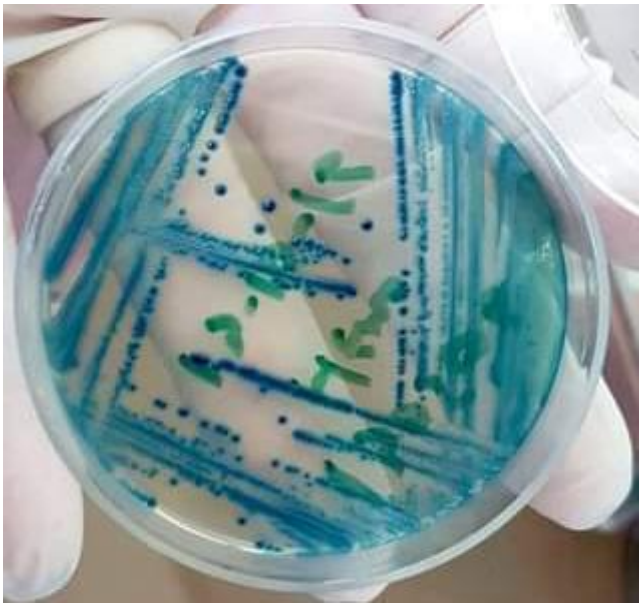


Figure 18 : Aspect des colonies sur milieu chromogène

Tableau 19 : Les caractères culturaux sur le milieu CLED et milieu Hektoen CHROMOGENE et KIA

milieu	caracteristique
Milieu hiktoene	Grande taille, de couleur jaune à saumon
Milieu CHROMAGAR	Colonie bleu vert a bleu avec ou sans aureole violette
MILIEU CLED	colonies jaunes
MILIEU KIA	LE LACTOSE PETIT JAUNE= colonie lactose+) et le glucose (culot jaune=colonies glucose+) avec ou sans production de gaz ou de sulfure dhydrogene (coloration noir)

1.2 COLORATION DE GRAM

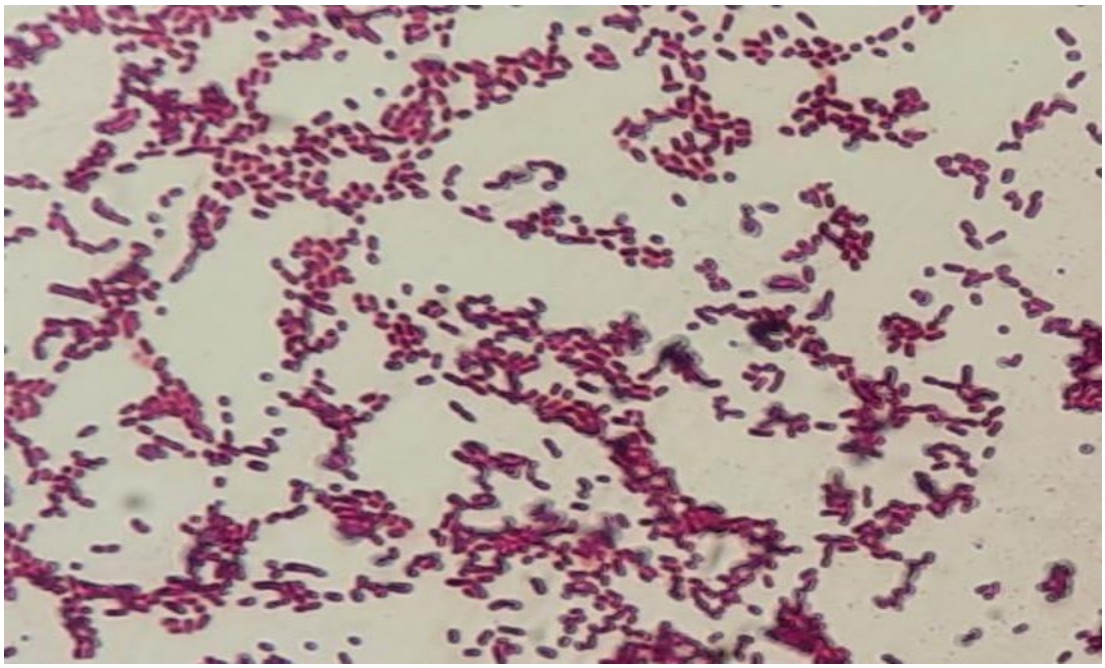


Figure 19 : Observation microscopique de la coloration de Gram à l'objectif x100

2 Résultats de l'identification biochimique par galerie API20E



Figure 20 : Profil biochimique de la souche Klebsiella oxytoca



Figure 21 : Profil biochimique de la souche Klebsiella pneumoniae

Tableau 20 : Caractères des principaux tests biochimiques à partir de la galerie API20 E

Tests	ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND
Résultats	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-

3 Résistance de Klebsiella aux antibiotiques

3.1 Profils de réponses aux tests d'antibiotiques

Toutes les souches de Klebsiella pneumoniae ont été testées vis-à-vis des molécules antibiotiques appartenant à des familles différentes, dont les β-lactamines, les aminosides et les quinolones. Les figures ci-dessous illustrent des exemples de réponses se sensibilité ou de résistance

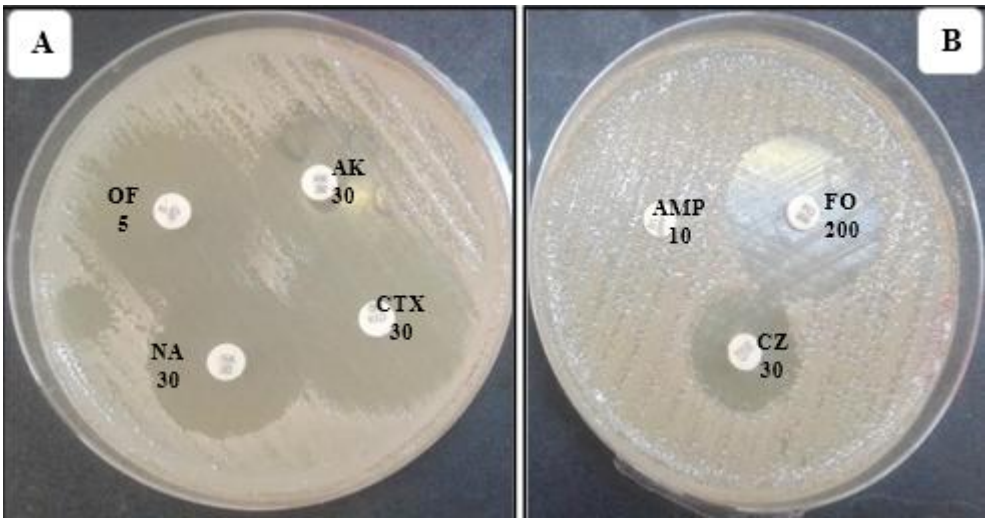
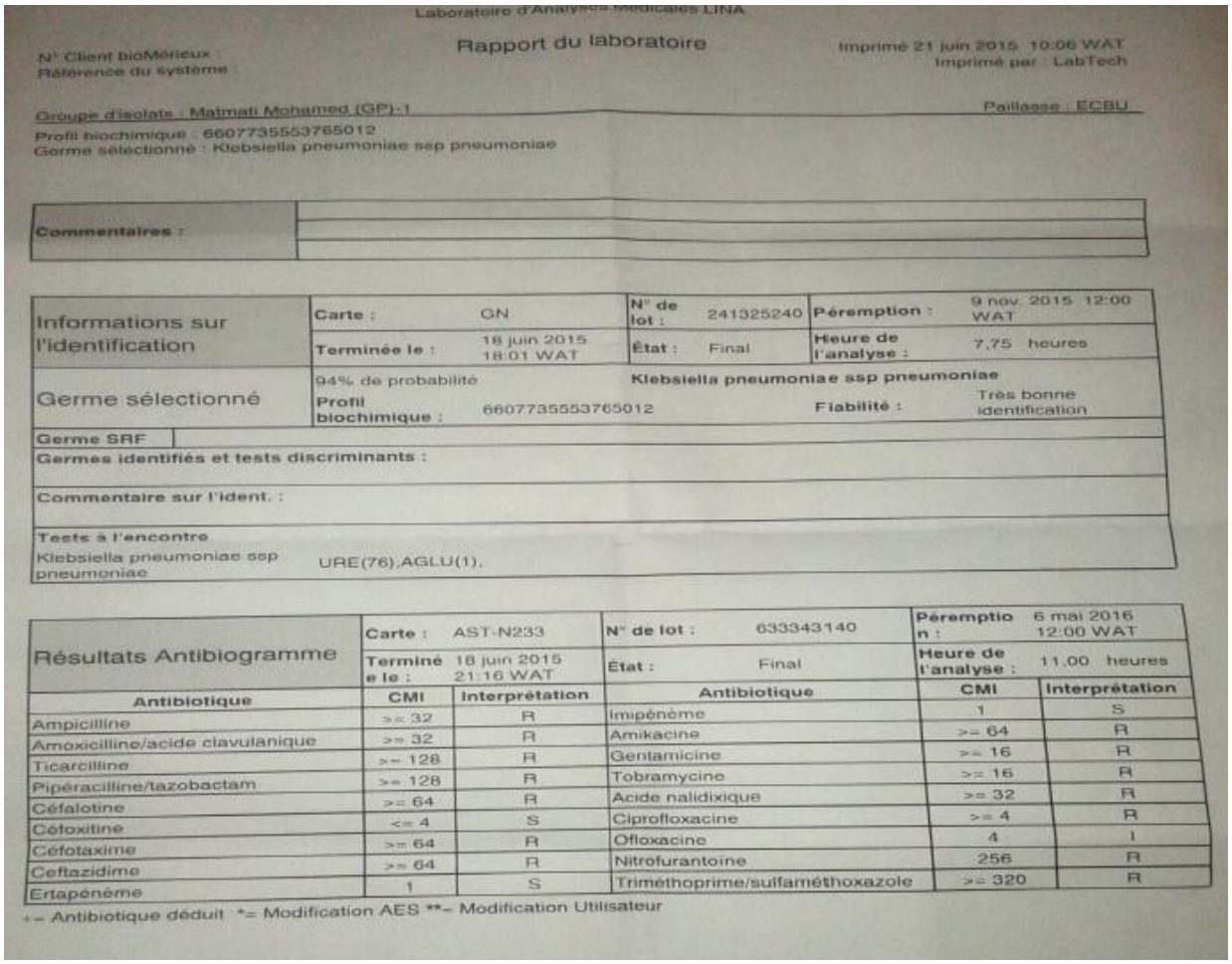


Figure 22 : A. Souche d'K.pneumoiae multisensible.

B. Résistance naturelle à l'ampicilline.

3.2 Profils de réponses au VITEKS 2



Laboratoire d'Analyses Médicales LINA

Rapport du laboratoire

N° Client bioMérieux :
Référence du système :

Imprimé 21 juin 2015 10:06 WAT
Imprimé par : LabTech

Groupe d'isolats : Matmati Mohamed (GP)-1
Profil biochimique : 6607735553765012
Germe sélectionné : Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae

Paillasse : ECBU

Commentaires :	

Informations sur l'identification	Carte : GN	N° de lot : 241325240	Péremption : 9 nov. 2015 12:00 WAT
	Terminée le : 18 juin 2015 18:01 WAT	État : Final	Heure de l'analyse : 7,75 heures
Germe sélectionné	94% de probabilité	Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae	
	Profil biochimique : 6607735553765012		Fiabilité : Très bonne identification
Germe SRF			
Germes identifiés et tests discriminants :			
Commentaire sur l'ident. :			
Tests à l'encontre Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae	URE(76),AGLU(1).		

Résultats Antibiogramme	Carte : AST-N233		N° de lot : 633343140	Péremption : 6 mai 2016 12:00 WAT	
	Terminé le : 18 juin 2015 21:16 WAT		État : Final	Heure de l'analyse : 11,00 heures	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	>= 32	R	Imipénème	1	S
Amoxicilline/acide clavulanique	>= 32	R	Amikacine	>= 64	R
Ticarcilline	>= 128	R	Gentamicine	>= 16	R
Pipéracilline/tazobactam	>= 128	R	Tobramycine	>= 16	R
Céfalotine	>= 64	R	Acide nalidixique	>= 32	R
Céfoxitine	<= 4	S	Ciprofloxacine	>= 4	R
Céfotaxime	>= 64	R	Ofloxacine	4	I
Ceftazidime	>= 64	R	Nitrofurantoine	256	R
Ertapénème	1	S	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	>= 320	R

+= Antibiotique déduit *= Modification AES **= Modification Utilisateur

Figure 23 : Rapport de laboratoire de l'automate Vitek 2 compact de K. pneumoniae

4 Répartition des souches de Klebsiella pneumoniae

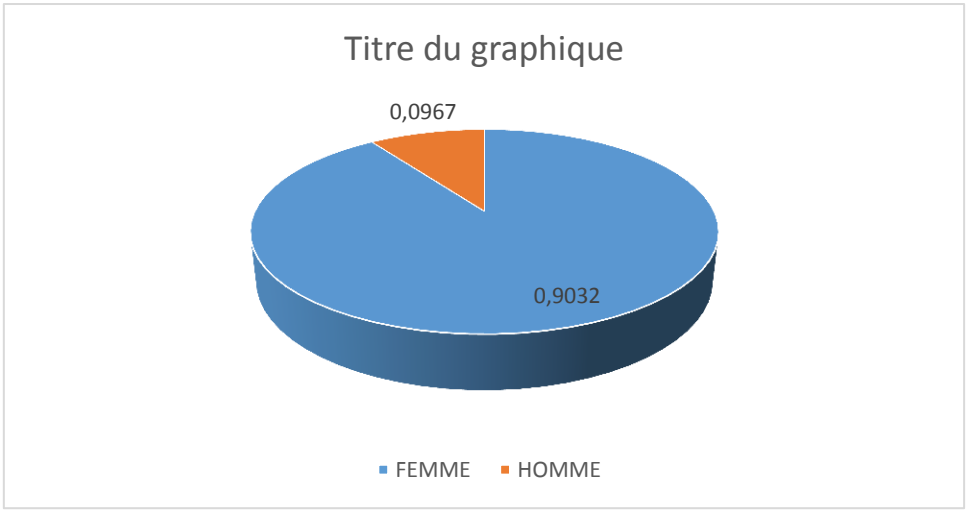


Figure 24 : Distribution globale des souches de Klebsiella selon le sexe

D’après les résultats obtenus, Parmi les 31 souches isolées, 28 de sexe féminin présentent un pourcentage de 90,32% et 3 de sexe masculin présentent un pourcentage de 9.67%. Le sexe ratio est de 0.8.

5 Répartition des souches klebsiella selon l’espèce

On peut remarquer une nette prédominance des souches isolées chez les femmes par rapport à celle des hommes

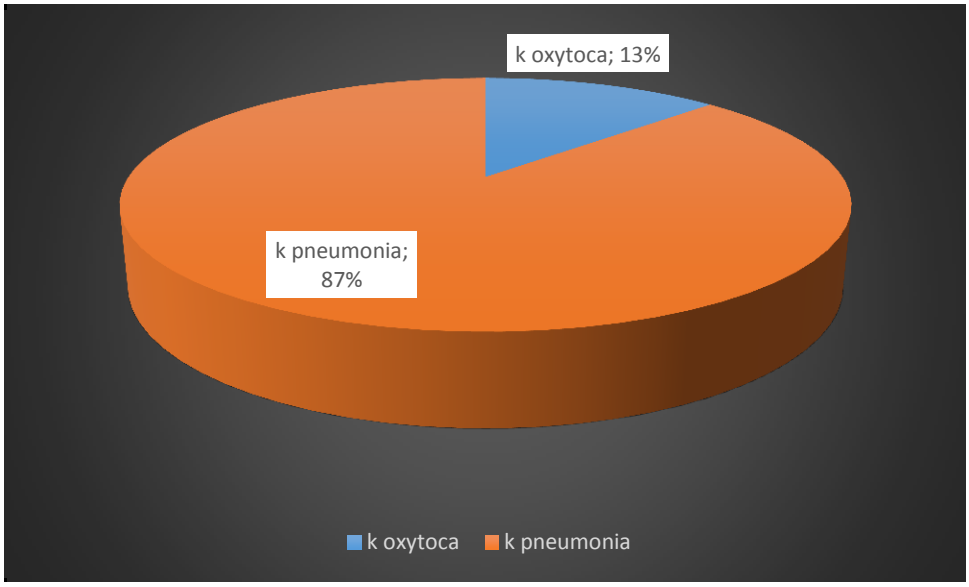


Figure 25 : Répartition des souches klebsiella selon l’espèce

Les résultats illustrés ci-dessous montrent une prédominance des souches k pneumonie par rapport aux souches soxytoca. Conformément aux données de la figure, l'espèce K. pneumoniae est plus fréquemment isolée avec un taux, 87% contre 13% à lespece k oxytoca

6 Répartition des souches d'klebsiella isolées selon les tranches d'âge

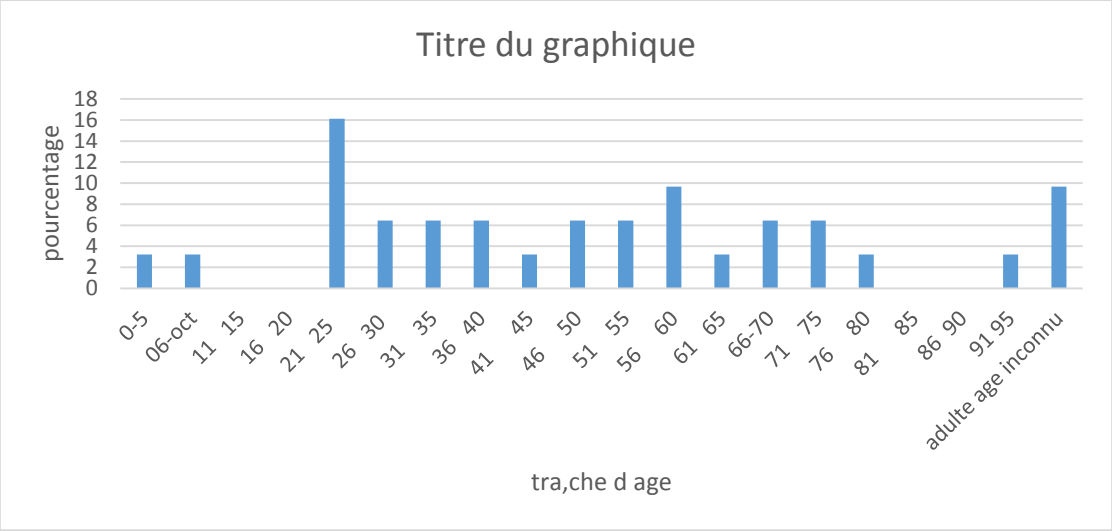


Figure 26 : Répartition des souches d'klebsiella isolées selon les tranches d'âge.

Selon l'histogramme la taille de classe d'Age a été calculée avec 5 ans repartie entre 0 et 95 en parallèle il y avait aussi des tranche d'Age inconnu mais sont des adultes du coup on observe que les traches d'âge entre 30-80 sont proche avec un pourcentage de 4-6 Les patients âgés de moins de10 ans étaient faiblement représentés soit 3 % en parallèle le tranche 20-25 montre le taux le plus élevé qui touche 16 % de tous les cas ce qui concerne les tranche d'âge 11-15 et 16-20aucun cas n'a été signalé même résultats retrouvée entre 81-95

7 Répartition des souches d'klebsiella isolées selon l'antibiogramme

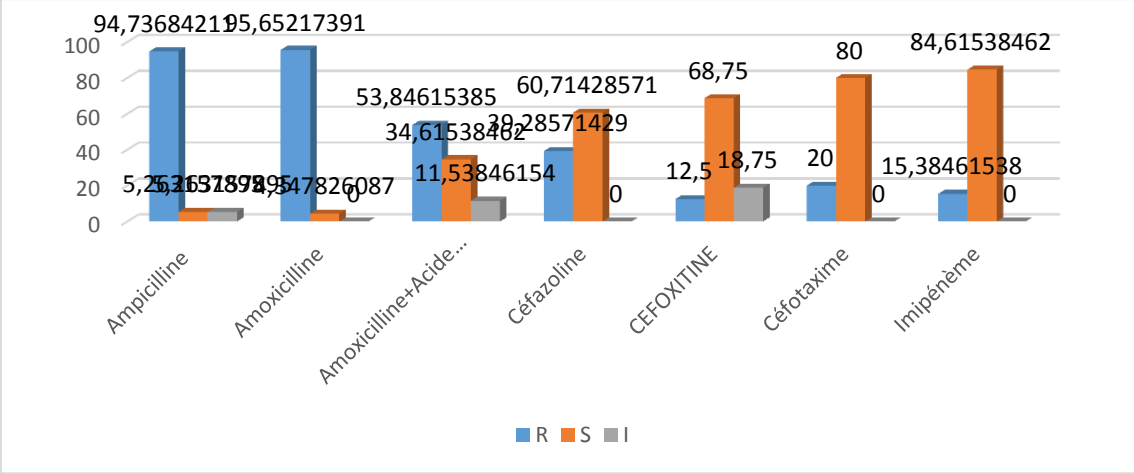


Figure 27 : Répartition des souches d'klebsiella isolées selon l'antibiogramme FAMILLE BETALACTAMINE

Selon les résultats obtenus, l'antibiogramme montre que les souches de Klebsiella étudiées présentent une résistance vis-à-vis la famille des béta-lactamines avec des pourcetages différents à savoir :

L'ampicilline et l'amoxicilline sont les antibiotiques qui ont subit le plus d'usure avec des taux de résistance de 94.73% et 95.65% respectivement. Un faible taux de résistance de 12.5 à cefoxitine et 15.38 a l'ampineme ont été observé parmi les souches de Klebsiella spp ces dernies présentent une bonne activité sur les souches de Klebsielle L'association amoxicilline-acide clavulanique présente un taux de résistance 53.84% .Concernant la céfazoline et le céfotaxime présentent des taux de résistance respectivement de39.28% et de 20%

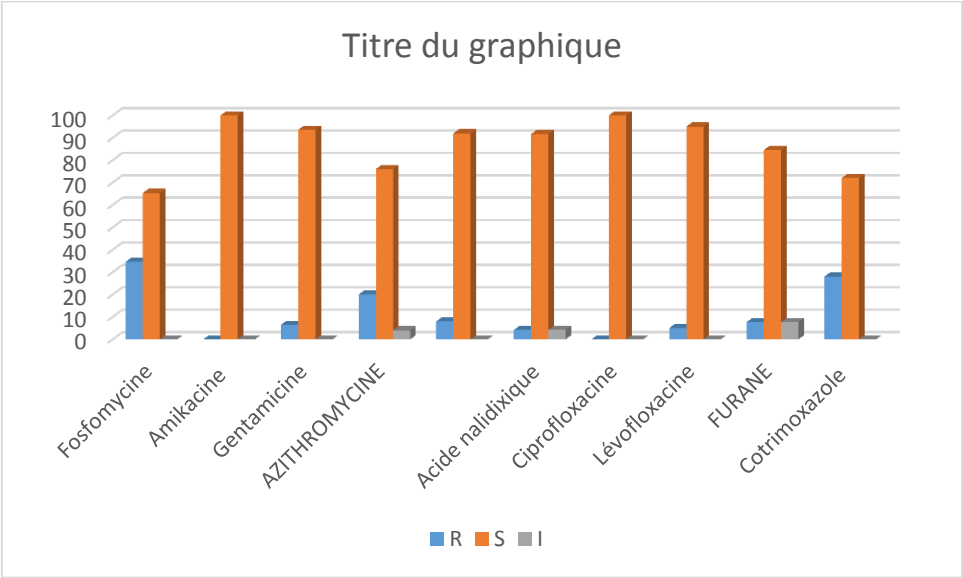


Figure 28 : Répartition des souches d'klebsiella isolées selon l'antibiogramme

Concernant les autres classes d'antibiotiques, un taux de (0%) est noté pour l'amikacine (aminoside). et le ciprofloxacine, naturellement sensible aux quinolones. Donc ce sont des résistances acquises. Le taux de résistance le plus important est noté contre la fosfomycine 34.62% suivi de cotrimoxazole 28%. Les souches de Klebsiella présentent des taux de résistances respectivement de (55,26%) pour lazithromycine et de (54,66 %) pour la colistine. Pour le gentamycine est de (66,23%)

Suivi par une très faible résistance contre la levofloxacine (5,26%) et l'acide nalidixique (1,36 %)

Tableau 12 : Résultat de la diversité des antibiotipe de klebsiella spp

Souche	AMP	AX	TZP	CZ	CN	FOX	CXM	CTX	CAZ	CPM	CAX	IMP	ATM	ETP	AMC	Fosfomycine	Streptomycine	Amikacine	Gentamicine	CHLORAMPHINICOL	Polymixine E ou colistine	Acide nalidixique	ciprofloxacine	lévofloxacine	furane	Sulfaméthoxazole+Trimethoprime (Cotrimoxazole)	NMBR DER/26	POURCENTAGE
28, 29	R					S		S				S			R	R		S	S		S			R		S	5R/26	
22		R		R	R	R		R	R				I		I	R			R			S			R	R	11 R/26	
7	R	R		R	R	S	R	S	S	S		S	S		R	R		S	S		S	S		S	S	S	7R/26	
14	R		S		S		S				S	s		s	S		S	S		S	S		S	S	S	S	1R/26	
12	R		S		S		S				S	s		I	S		S	S		S	S		S	S	S	S	1R/26	
13	R		S		S		S				S	R		S	S		S	S		S	S		S	S	S	S	2R/26	
15, 16	R		S		S		S				S	S		R		R		S		S	S		S	S	S	R	/26	
19	R				s		S			R	S			R	R		SENSIBLE	SENSIBLE		resistant	SENSIBLE		SENSIBLE				5R/26	
10	R		S		S		S		s		S	s		R	R		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	3R/26	
17	R		S		S		S				S			R	S		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE		SENSIBLE	RESISTANT	3R/26	
20	R		R		S		S		S		S	S		R	S		SENS	SEN		SENSIBL	SEN		SENSI	SENS	SEN	SENSIBLE	3R/	

																IBLE	SIBLE		E	SIBLE		BLE	IBLE	SIBLE		26	
9	R	R		R		S							s		R	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	4R/26	
11	R	R	S	R	S		S					s		S	S		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	3R/26	
2	R	R	S	S		S	R	S	S	S		S	s	I		S		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE				SENSIBLE	SENSIBLE	INTERMEDIAIRE	2R/26	
5	R	R		R	R	S	S	S	S	S		S	s		R	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	5R/26	
6	R	R		S	S		R	R	R	S		S	R		S	RESISTANT		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	7R/26	
8	I	R		S			R	S				S	s		S			SENSIBLE	SENSIBLE						SENSIBLE	SENSIBLE	2R/26	
1	R	R	S	R		s			R	S		s			S					SENSIBLE							5R/26	
4	R	R	S	R	R	S		R	I	S		S	R	S	S	RESISTANT		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	INTERMEDIAIRE	7R/26	
3	R	R		R		R		R				S	s		R	RESISTANT		SENSIBLE	RESISTANT			INTERMIDIARE			SENSIBLE	RESISTANT	9R/26	
21	R		S		S		S				R			R	S		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	3R/26	
30	R			S				S				R			R			SEN	SENS	SENSIBL	SEN	SENSIB		SENS	SEN	SENSIBLE	3R/	

																	SIBLE	IBLE	E	SIBLE	LE		IBLE	SIBLE		26	
31	R		S	S		S		S	R			S			S			SENSIBLE	INTERMEDIARE	SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	SENSIBLE	2R/26	
27	S			S		S		S			s	S						SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			0R/26	
18	R		R		R		R				R			S	S		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			SENSIBLE		SENSIBLE	6R/26	
25, 26	R			S		s		S			s	S						SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE			1R/26	
23	R	R			S			S	S	S			S			SENSIBLE			SENSIBLE	SENSIBLE		SENSIBLE		SENSIBLE	SENSIBLE	2R/26	
24	R	S		R		R		S			s	S						SENSIBLE		resistant	resistant		SENSIBLE			5R/26	

8 Discussion

La fréquence des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques a atteint, partout dans le monde, des proportions inquiétantes et est devenue un problème majeur de santé publique

Klebsiella est un pathogène opportuniste. Aujourd'hui c'est le chef de file des germes responsable d'infections communautaire sévères et difficiles à traiter, des épidémies sont causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques. Ce qui nous a incités à entamer cette étude consistaient à évaluer le niveau de résistance aux antibiotiques des souches de KLEBSIELLA

Le présent travail est effectué sur 31 souches du Klebsiella isolées à partir de défirent produits pathologique au niveau des laboratoires zitouni et el chiffa du Médéa. Le pourcentage d'isolement de l'espèce à partir des prélèvements urinaires est plus importante soit 99% de l'effectif. Pour ce qui est la répartition cette étude est montre que

Parmi les 30 souches isolées On peut remarquer une nette prédominance des souches isolées chez les femmes avec un taux par rapport à celle des hommes Ce résultat est identique à ceux de la Grèce l'Italie (ECDC, 2019) et le Maroc (Es-Saoudy, 2019). Quant aux données de la France, l'Angleterre (ECDC, 2019) et ceux fournis par Sekhri-Araf en 2011, ils concordent avec les nôtres Car Serait due à l'anatomie caractéristique de l'appareil urogénitale féminin comparablement au masculin leur urètre le canal qui reliée la vessie à l'extérieur est plus court

Concernant les résultats de répartition selon l'espèce montrent une prédominance des souches k pneumonies par rapport aux souches k oxytoca .crr K. pneumoniae est l'espèce du genre Klebsiella la plus pathogène pour l'humain, suivie de K. oxytoca [32].

Et l'espèce dominat dans les infections urinaires

Dans notre étude, toutes les tranches d'âge sont touchées par les infections à K. pneumoniae, les extrémités d'âge variant entre 12 MOIN et 91 ans. 6 Les patients âgés de moins de10 ans étaient faiblement représentés soit 3 % en parallèle le tranche 20-25 montre le taux le plus élevé qui touche 16 % de tous les (cas de rapport non protégé, avec certaines infections sexuellement transmissibles ce qui concerne les tranche d'âge 11-15 et 16-20aucun cas n'a été signalé même résultats retrouvée entre 81-95 CES RESULTAT SONT DEVERGENCE avec ceux de l' Européen Center For Deasease Prévention and Control (ECDC) en 2019 pour la France et l'Italie les personnes âgées et les enfants de moins de 10 ans qui sont les plus touchés, il semblerait que l'âge influence les infections à K.p en vue de son rapport avec le statut immunitaire des personnes.

Selon les résultats obtenus, l'antibiogramme montre que les souches de Klebsiella étudiées présentent une résistance vis-à-vis la famille des béta-lactamines avec des pourcentages différents à savoir :

L'ampicilline et l'amoxicilline sont les antibiotiques qui ont subit le plus d'usure avec des taux de résistance de 94.73% et 95.65% respectivement. nos résultats sont à taux proche avec ceux fournis par Sekhri-Arafa en 2011 et CEDAH Sonia 2021 qui confirme ces résultat cette résistance est due à la prescription on inutile et trop fréquente d'antibiotique à large spectre au lieu d'antibiotiques mieux cible dans le cadre d'une diagnostic plus précis et l'utilisation inadéquate par le pâtirent qui ne respecte pas la dure de traitement cependant, Un faible taux de résistance de 12.5 à ce foxitine et Concernant la céfazoline et le céfotaxime présentent des taux de résistance respectivement de39.28% et de 20% et 15.38 à impinem

Le taux faible de résistance signale serait lié au nombre restreint des souches isolées ou à la préservation de ces antibiotiques pour les malades atteints de Covid ; ces résultats concernant la famille cephalosporine (cefotaxime /ceftazidime) sont proche avec ceux publier en France avec un taux 27.08%, en Espagne 26.8

Cependant ces résultat sont relativement proches vis-à-vis l'imipenème avec ceux publier en France et en Espagne avec un taux de résistance 0.5% et 4.7 % respectivement Par contre nos résultats sont en divergence avec ceux qui ont été publié par CEDAH Sonia 2021 qui trouve des taux élevée de résistance avec des taux de Cz et cf 76% alors qu'en Turquie les taux de 76.9% impinem 48.2, ont été aussi rapportés.

Finalement l'antibioresistance teste de klebsiella qui ont été teste contre les antibiotique suivant amikacine (aminoside), et le ciprofloxacine avec un taux 0% alors que les antibiotique suivant gentamycine .colistine acide nalidixique ciprofluxacine levofloxacine furane avant un taux de résistance inferieure a 7% cependant les antibiotique fosfomycine azhitromycine et cotrimoxazole montre un taux de résistance important 34.42 % 20% et 28% respectivement

Cette étude a montré un raccordement avec des données prealablement detaillé par ref vis-à-vis les antibiotiques suivant Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) dans lesquelles les taux suivants ont été rapporté à savoir 28% 12.3%et 6.8% France rayaune unie et la suisse respectivement

Cependant nos résultats sont en dissemblance absolue par rapport à ceux publié en Turquie Portugal et Italie dans lesquelles des taux de 69 % ; 42.7 et 52.4 successivement

Pour ce qui est de la Gentamycine un taux de résistance aussi faible a été rapporté de 6.5 % des souches isolées. Ce qui joint avec ceux estimés en suisse, royaume unie et la France avec des rapports de 3.5 %, 8.1 % et 18.8 %. Alors que ceci est loin d'être proches à ceux publie en Italie et la Turquie ou les rapports de résistances ont touché 31.6 et 64.6 successivement.

Concernant les résultats des antibiotipe Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien, en l'absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment à titre préventif et curatif, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause. Selon Courvalin (2008), la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection : une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées, engendrant ainsi un large phénotype résistant de la bactérie. Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibio-résistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance.

CONCLUSION

CONCLUSION

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste, rencontré dans diverses situations d'infectiologie dans divers produits pathologiques chez la femme et l'homme et même en pédiatrie. Selon les spécialistes du domaine, Aujourd'hui elle est le chef de file des germes responsables d'infections cominautaire sévères et difficiles à traiter. On en parle même de situations épidémiques causées par des souches résistantes à une large variété d'antibiotiques (Boukadida et al., 2000).

Les résultats de notre étude permettent de fournir quelques données, sur les souches de Klebsiella au niveau DE LABORATOIRE D ANNALYSE ZITOUNI ainsi qu'une évaluation de la sensibilité à plusieurs antibiotiques des trois principales familles (β-lactamines, Quinolones, Aminosides). Les espèces de la famille Enterobacteriaceae sont les agents pathogènes les plus isolés à partir des différents prélèvements biologiques dont Klebsiella représentes la fréquence la plus élevé après Escherichia coli.

L'étude du profil de résistance des souches Klebsiella isolées montre une grande fréquence de résistance surtout à l'Ampicilline A partir de l'antibiogramme de Klebsiella pneumoniae, un grand nombre de ces souches présente un fort taux de résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques, en particulier les β-lactamines, les aminosides, et les quinolones. Par ailleurs l'imipénème, le cefoxitine et la colistine restent les molécules les plus actives.

Pour être rationnel, le traitement antibiotique probabiliste prescrit par le praticien doit tenir compte à la fois de la fréquence des germes isolés dans les principales infections communautaire et de l'incidence de la résistance aux antibiotiques. La connaissance des mécanismes de résistance aux antibiotiques permettra au clinicien de comprendre un éventuel échec thérapeutique et d'entretenir ainsi une collaboration étroite avec le microbiologiste qui peut prescrire l'antibiogramme adéquat pour obtenir une antibiothérapie efficace.

Il est évident, qu'aujourd'hui avec l'augmentation des signalements des situations d'antibio-résistance, notamment les cas de multi résistance, de prendre des mesures urgentes afin de freiner la progression de cette situation qui peut échapper à tout contrôle. Même si les possibilités de manouvre sont limitées par la gamme des antibiotiques couramment utilisées en stratégies thérapeutiques. Ceci trouvera application dans l'orientation qualitative et quantitative des antibiotiques à prescrire.

En recherche académique et analyses scientifiques, à la fois biologique et médicale, il est indispensable d'en profiter de la masse de données disponibles sur ce genre d'infection, à travers les études hospitalières et universitaires, pour une éventuelle utilisation dans une analyse rétrospective avec des retombées immédiates et dans le future proche. Les aspects à explorer, en plus des situations purement médicales (diagnostic, traitements…et), l'aspect épidémique revêt une importance particulière afin de cerner les causes directes et indirectes et d'éviter, ou au moins, de freiner la progression foudroyante des situations de multi-résistance. D'autres aspects méritent les attentions particulières, surtout celles qui sont relatifs aux structures et supports génétiques de telles situations (épidémie et multi-résistance)

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Référence Bibliographique

A

- A.Philippon. Cours de bactériologie générale [Internet]. 1975 [cited 2019 Sep 23]. Available from: http://www.microbes-edu.org/etudiant/antibio1.html
- **Arlet G, Philippon A**., **2003**. Les nouvelles β-lactamases à l'aube du troisième millénaire. Rev Franç Lab; 352: 41-55

- **Arafa N., Smati F., Scheftel JM., Meunier O. 2009.**Caracterisation Phenotypique Et Genotypique De Souches De *Klebsiellapneumoniae Subsp Pneumoniae* Isolees A L'hopital Universitaire De Constantine, Algérie. Sciences & Technologie C – N°30 Décembre (2009), Pp.44-45-46.
- **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., and Monteil, H. 2000.** Bactériologie clinique, Ellipses, Paris. 2éme édition : 171-211

B

- **Bryskier, A., 1984**. [Classification of bêta-lactams]. Pathol.Biol.(Paris) 32:658-667.
- **Bonnet R. 2004.** Growing group of beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 48: 1-14
- **Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. 2002.** Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à Klebsiella pneumoniae productrice de bètalactamase à spectre étendu.Arch Pédiatr 2002 ; 9 :463-8.
- **Ben Haj Khalifa.A et Khedher. M. 2010**. Epidémiologie des souches de Klebsiella spp.uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. Pathologie Biologie 60(2012) e1-e5.
- **Ben Achour N., Mercuri P.S., Power P., Belhadj C., Ben moussa M., Galleni M et Belhadj O., 2008.** First detection of CTX-M-28 in a Tunisian hospital from a cefotaximerésistant Klebsiella pneumoniae strain. Pathologie Biologie 57 (2009) 343- 348.
- **Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. 2002.** Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à Klebsiella pneumoniae productrice de bètalactamase à spectre étendu.Arch Pédiatr 2002 ; 9 :463-8.

- **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.

C

- **Cavallo J-D., R. Fabre R., Jehl F., Rapp C., Garrab E. 2004.** Bêtalactamines. EMCMaladies Infectieuses 1 (2004) 129-202.
- **Courvalin, P., R. Leclercq, and E. Bingen**. 2006. Antibiogramme.**2**:142-162, 227-246, 263-277
- **Carlet J., Rambaud C., Pulcini C., 2012**. Alliance contre les bactéries multirésistantes : sauvons les antibiotiques ! Alliance against MDRO : Safeguarding antibiotics. Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation 31(2012) 704-708.
- **Carniel, E. 1999**. The Yersinia high-pathogenicity island. Int.Microbiol. **2**:161-167
- **Clegg S . Murphy C.N.** (2016). Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol. Spectrum*., **4** : UTI-0005-2012. **enis F., Ploy M.C., Martin C., Binge**
- Carle S. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Pharmactuel. 2009, 42(2):6-19

D

- **Davis, B. D. 1987**. Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides. Microbiol.Rev. **51**:341-350.
- **Dabernat, H., O. Petitjean, and S. J. P. W. P. Schlemmer**. **1997**. Infectiologie d'A à Z.354-355

E

- **El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. 2012.** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.

F

- **Fauchere (J-L), Avril (J-L), 2002**. Bactériologie générale et médicale, ed : Ellipses, Paris, p, 141-258

H

- **Hammouchi B., Chakkouri K., Nejmi S E., Chlilek A. 2005**.Épidémiologie de l'infection nosocomiale en réanimation pédiatrique. Lettres à la rédaction / Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation 24 (2005) 697–700 **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

- **Hancock, R. E., S. W. Farmer, Z. S. Li, and K. Poole. 1991**. Interaction of aminoglycosides with the outer membranes and purified lipopolysaccharide and OmpF porin of Escherichia coli. Antimicrob.Agents Chemother. 35:1309-1314 CHU Toulouse. Fiche technique-Bactériologie 83 EN. FTBAC. 14610611.01.

J

- **Jehl F, Chomarat M, Weber M, Gerard A**.2003. De l'antibiogramme à la prescription. Ed, Biomérieux. 31-64.

- Jean FRENEY, François Renaud, Willy Hansen, Claude Bollet. Précis de bactériologie clinique. Eska. Paris: Editions Alexandre Lacassagne; 2000. 1116-1173p

- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). The Genera Klebsiella and Raoultella. *The Enterobacteria* (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press

- **Jarlier V et Nordmann P**. **2000**. Entérobactéries et β-lactamines. ESKA 2000-Précis de bactériologie Clinique

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

- **Jacoby G.A, Chow N, Waites K.B., 2003**. Prevalence of plasmid –mediated quinolone resistance. J Antimicrobiol Agents and Chemotherapy 47: 559-562

K

- **Kariuki S, Corkill J.E, Revathi G, Musoke R, Hart A, Keynan Y, Rubinstein E**. 2007. The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. International journal of Antimicrobiol Agents **6**: 2474-2479

L

- **Le Minor L and Véron M**. **1989**. Bactériologie médicale, 2éme édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris**.2:**428-432
- **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
- Lozniewski A., Rabaud C., Nancy. RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES-Infections associées aux soins. CClinSE. 2010.

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
- **Menard, R., C. Molinas, M. Arthur, J. Duval, P. Courvalin, and R. Leclercq**. **1993**. Overproduction of 3'-aminoglycoside phosphotransferase type I confers resistance to tobramycin in Escherichia coli. Antimicrob.Agents Chemother. **37**:78-83

N

- **Newman M., 1990.**VADE-MECUM des antibiotiques, 5éme éd : Maloine, Paris,p13- 37/219-243
- **Nikaido, H. 1994**. Prevention of drug access to bacterial targets : permeability barriers and active efflux. Science **264**:382-388

P

- **Podschun, R. and U. Ullmann**. 1998. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin.Microbiol.Rev. **11**:589-603.
- **Ploy M.-C, Gassama A., Chainier D. and Denis F., 2005.** Integrons : an antibiotic resistance gene capture system, Rev.Immuno-analyse & Biologie spécialistée P. (20) : 343-352.

R

- **Ramirez, M. S. and M. E. Tolmasky, 2010.** Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resist.Updat. 13:151-171
- **Roy Paul H.1997**. Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries. Médecine/ sciences n° 8-9, vol. 13.

S

- Sheu C-C, Chang Y-T, Lin S-Y, Chen Y-H, Hsueh P-R. Infections Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: An Update on Therapeutic Options. Frontiers In Microbiolgy. 2019, 10(8):1-13.
- **Singleton P, W. J. 2005.** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies.
- **Struve, C., M. Bojer, and K. A. Krogfelt**. 2008. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on on virulence. Infect.Immun. **76**:4055-4065
- **Sebghati, T. A., T. K. Korhonen, D. B. Hornick, and S. Clegg**. 1998. Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. Infect.Immun. **66**:2887-2894.

W

- **Wachino, J. and Y. Arakawa**. 2012. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. Drug Resist.Updat. **15**:133-148 Canada A de la santé publique du. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes

  Klebsiella spp. [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from:

  https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire

  SITE WEB

  1 Mohammedi. Classification et mode d'action des antibiotiques [Internet]. Available from: www.sante.dz/aarn/classification

  2 Tableau des antibiotiques [Internet]. [cited 2019 Sep 23]. Available from: www.antibioresponsable.fr 42. Carle S. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Pharmactuel. 2009, 42(2):6-19

Canada A de la santé publique du. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes 3 Klebsiella spp. [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from: https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire

Klebsiella pneumoniae [Internet]. [cited 2019 Sep 15]. Available from: https://www.britannica.com/science/Klebsiella.

ANNEXE

Annexe VI

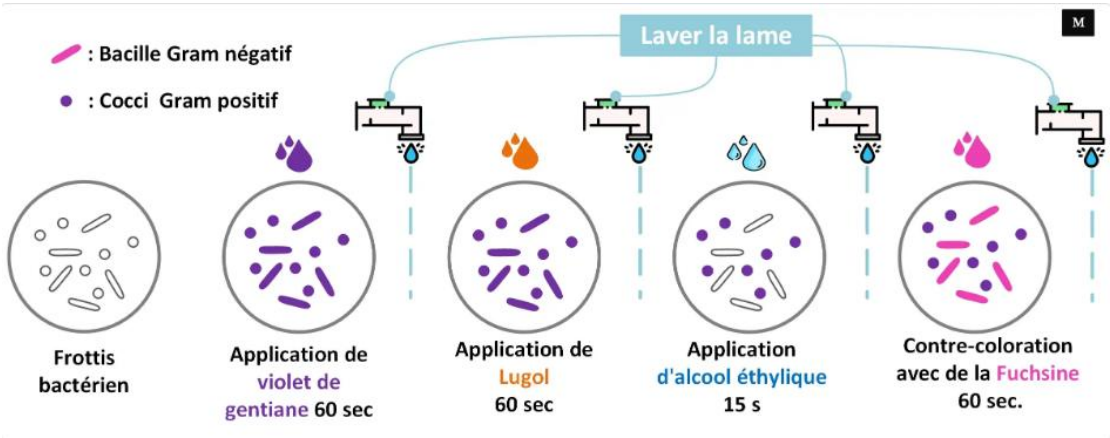
Tableau XXV : Tableau de lecture de la galerie miniaturisee api 20e.

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H_2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-napthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO_2^- / N_2	Nitrates (NO3)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Activer Windows

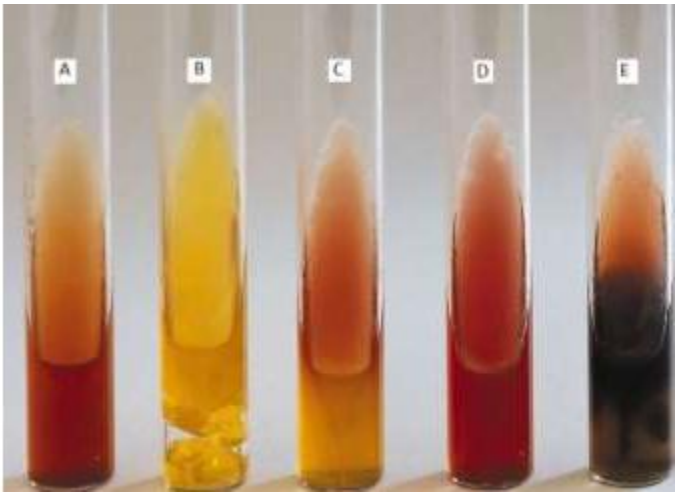
Tableau XXVII : Aspect des colonies sur Chromagar (**CHROMagar™ Orientation**

Escherichia coli	Colonies rose a pourpre
KES-C (Klebsiella, Entérobacter, Serratia, Citrobacter)	Colonie bleu vert a bleu avec ou sans aureole violette
Proteus mirabilis *Morganella* *Providencia*	Colonies pales a beiges, cernees d'une aureole ambre a marron
Pseudomonas aeruginosa	Colonies muqueuses blanches brunatres.
Acinetobacter baumannii	Colonies muqueuses blanches opaque.
Enterococcus sp	Petites colonies bleu turquois



Annexe les etapes de coloration de grame

Lecteur sur milieu kligler_HAJNA



Tube A : Tube non ensemencé
Tube B : Fragmentation de la gélose : gaz +. Pente jaune : lactose +. Culot jaune : glucose +.
Tube C : Pente rouge : lactose -, faire la recherche de la β-galactosidase. Culot jaune : glucose +.
Tube D : Pente rouge : lactose -, faire la recherche de la β-galactosidase. Culot rouge : glucose -.
Tube E : Présence de noir dans le tube : H_2S +. Pente non visible : lactose ? et faire la recherche de la β-galactosidase. Culot non visible : glucose ?.

Résultat en fonction des couleurs :

Pente :

- Rose/Rouge : Lactose - / faire teste ONPG.
- Jaune : Lactose + / obligatoirement ONPG +.
- Noire : Lactose ? / faire test ONPG.

Culot :

- Rose/Rouge : Glucose –.
- Jaune : Glucose +.
- Noir : Glucose ? voir le milieu Hugh et Leifson.

Ensemble du tube :

- Noircissement : H_2S +.
- Fragmentation de la gélose : Gaz +.